

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E NUTRICIONAL DOS CARACÓIS

Dennis Simões Caetano

Dissertação orientada pela Professora Doutora Cristina M. M. Almeida

Mestrado em Qualidade Alimentar e Saúde

2019

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E NUTRICIONAL DOS CARACÓIS

Dennis Simões Caetano

Dissertação orientada pela Professora Doutora Cristina M. M. Almeida

Mestrado em Qualidade Alimentar e Saúde

2019

Resumo

Os caracóis terrestres são um recurso alimentar natural muito apreciado nos países mediterrânicos, nomeadamente em Portugal, um dos maiores consumidores do mundo. As espécies *Theba pisana* e *Otala lactea*, são das mais consumidas, embora a informação nutricional seja escassa. Por esse motivo, o principal objetivo deste trabalho foi estudar as suas propriedades físico-químicas e nutricionais.

Com este objetivo, implementaram-se vários métodos para a determinação da matéria gorda, proteína, hidratos de carbono, matéria seca, água, minerais e vitamina C. A análise dos vários parâmetros foi realizada nos caracóis não confecionados (apenas fervidos) e confecionados.

A carne dos caracóis *Theba pisana* não confecionados apresenta um baixo teor calórico (74 kcal) devido ao baixo teor de gordura (2,3%) e de hidratos de carbono totais (2,0%), mas com um bom teor proteico (11%). Apresenta um elevado conteúdo mineral (1,1%) e um teor de vitamina C de 4,5 mg/100 g. Os minerais nutritivos mais representativos são o cálcio (364 mg/100 g), fósforo (140 mg/100 g), sódio (92 mg/100 g), potássio (78 mg/100 g), magnésio (67 mg/100 g), ferro (4,7 mg/100 g), manganês (0,8 mg/100 g) e zinco (0,6 mg/100 g).

A carne dos caracóis *Theba pisana* confecionados apresenta um baixo teor calórico (94 kcal) devido ao baixo teor de gordura (3,2%) e de hidratos de carbono totais (2,9%), mas com um bom teor proteico (13%). Apresenta um elevado conteúdo mineral (3,1%) e baixo teor de vitamina C (2,4 mg/100 g). Os minerais nutritivos mais representativos são o sódio (775 mg/100 g), cálcio (273 mg/100 g), fósforo (168 mg/100 g), potássio (65 mg/100 g), magnésio (62 mg/100 g), ferro (5,4 mg/100 g), manganês (2,1 mg/100 g) e zinco (1,4 mg/100 g).

A carne dos caracóis *Otala lactea* não confecionados apresenta um baixo teor calórico (67 kcal) devido ao baixo teor de gordura (1,3%) e de hidratos de carbono totais (4,3%), mas com um bom teor proteico (9,6%). Apresenta um elevado conteúdo mineral (1,4%) e um teor de vitamina C de 4,5 mg/100 g. Os minerais nutritivos mais representativos são o cálcio (293 mg/100 g), fósforo (128 mg/100 g), potássio (73 mg/100 g), sódio (60 mg/100 g), magnésio (59 mg/100 g), ferro (3,8 mg/100 g), manganês (1,2 mg/100 g) e zinco (0,6 mg/100 g).

A carne dos caracóis *Otala lactea* confecionados apresenta um baixo teor calórico (80 kcal) devido ao baixo teor de gordura (1,5%) e de hidratos de carbono totais (3,6%), mas

com um bom teor proteico (13%). Apresenta um elevado conteúdo mineral (3,5%) e baixo teor de vitamina C (2,2 mg/100 g). Os minerais nutritivos mais representativos são o sódio (838 mg/100 g), cálcio (247 mg/100 g), fósforo (158 mg/100 g), magnésio (54 mg/100 g), potássio (53 mg/100 g), ferro (4,1 mg/100 g), manganês (1,6 mg/100 g) e zinco (1,6 mg/100 g).

Ambas as espécies de caracóis (confeccionados ou não confeccionados) também apresentam na sua constituição outros minerais importantes, embora em menores concentrações, como o molibdénio, o níquel, o cobalto, o cobre, o selénio, o crómio e o silício.

O processo de confeção dos caracóis, de ambas as espécies, aumentou significativamente o seu teor em sódio, proteínas, minerais totais (cinzas) e fósforo. No entanto, o teor em vitamina C, cálcio e potássio diminui consideravelmente.

Nenhuma das espécies apresentou concentrações de pesticidas (23 compostos) acima do limite de deteção do método cromatográfico aplicado.

A carne de caracol das espécies *Otala lactea* e *Theba pisana* é um alimento de elevado potencial nutricional e cujo hábito de consumo é uma boa alternativa à ingestão de carnes tradicionais, apresentando alguns benefícios na saúde e possuindo uma grande versatilidade e potencial no atual contexto social e económico.

Palavras-chave: caracóis; *Otala lactea*; *Theba pisana*; nutricional; confeção.

Abstract

Land snails are a highly appreciated food resource in Mediterranean countries, particularly in Portugal, one of the biggest consumers in the world. The *Theba pisana* and *Otala lactea* species are among the most consumed, although nutritional information is scarce. Therefore, the main objective of this work was to study their physicochemical and nutritional properties.

For this purpose, several methods were implemented for lipid, protein, carbohydrate, dry matter, water, minerals and vitamin C determination. The several parameters analyses were carried out either in uncooked (just boiled) and cooked snails.

Meat of uncooked *Theba pisana* snails shows a low caloric value (74 kcal) as result of the low fat (2,3%) and total carbohydrates (2,0%) contents, but a great protein content (11%). It shows a high mineral content (1,1%) and a vitamin C content of 4,5 mg/100 g. The most represented minerals are calcium (364 mg/100 g), phosphorus (140 mg/100 g), sodium (92 mg/100 g), potassium (78 mg/100 g), magnesium (67 mg/100 g), iron (4,7 mg/100 g), manganese (0,83 mg/100 g) and zinc (0,58 mg/100 g).

Meat of cooked *Theba pisana* snails shows a low caloric value (94 kcal) as result of the low fat (3,2%) and total carbohydrates (2,9%) contents, but a great protein content (13%). It shows a high mineral content (3,1%) and a low vitamin C content (2,4 mg/100 g). The most represented minerals are sodium (775 mg/100 g), calcium (273 mg/100 g), phosphorus (168 mg/100 g), potassium (65 mg/100 g), magnesium (62 mg/100 g), iron (5,4 mg/100 g), manganese (2,1 mg/100 g) and zinc (1,4 mg/100 g).

Meat of uncooked *Otala lactea* snails shows a low caloric value (67 kcal) as result of the low fat (1,3%) and total carbohydrates (4,3%) contents, but a great protein content (9,6%). It shows a high mineral content (1,4%) and a vitamin C content of 4,5 mg/100 g. The most represented mineral nutrients are calcium (293 mg/100 g), phosphorus (128 mg/100 g), potassium (73 mg/100 g), sodium (60 mg/100 g), magnesium (59 mg/100 g), iron (3,8 mg/100 g), manganese (1,2 mg/100 g) and zinc (0,58 mg/100 g).

Meat of cooked *Otala lactea* snails shows a low caloric value (80 kcal) as result of the low fat (1,5%) and total carbohydrates (3,6%) contents, but a great protein content (13%). It shows a high mineral content (3,5%) and a low vitamin C content (2,2 mg/100 g). The most represented minerals are sodium (838 mg/100 g), calcium (247 mg/100 g),

phosphorus (158 mg/100 g), magnesium (54 mg/100 g), potassium (53 mg/100 g), iron (4,1 mg/100 g), manganese (1,6 mg/100 g) and zinc (1,6 mg/100 g).

Both species of snails (cooked or uncooked) also have in their constitution other important minerals, although in lower concentrations, such as molybdenum, nickel, cobalt, copper, selenium, chromium and silicon.

In both snail species, the cooking procedure significantly increased the content of sodium, proteins, total minerals (ashes) and phosphorus. However, the content of vitamin C, calcium and potassium decreased considerably.

None of the study species showed pesticide concentrations above the detection limit of the chromatographic method.

Meat of *Otala lactea* and *Theba pisana* species is a high potential nutritional food, whose consumption habit is a good alternative to traditional meats, showing some health benefits and having a wide versatility and potential in the current social and economic context.

Key-words: snails; *Otala lactea*; *Theba pisana*; nutritional; cooking.

Agradecimentos

A realização desta tese não teria sido possível sem o contributo de muitas pessoas que, de forma direta ou indireta, me ajudaram a completar esta etapa do meu percurso académico.

Começo por agradecer à minha orientadora de tese, a Professora Doutora Cristina Almeida, por toda a colaboração e apoio, desde a escolha do tema proposto, até à conclusão do trabalho experimental e teórico. Do primeiro dia em laboratório às voltas em Lisboa para comprar os caracóis, até ao momento em que termino esta tese, foram vários os dias de trabalho em conjunto. Agradeço todas as horas de disponibilidade e afinho demonstrados ao longo deste longo período de trabalho, assim como a tolerância, flexibilidade e coordenação que sempre adotou para garantir o acompanhamento do trabalho, uma vez que eu não tenho residência fixa em Lisboa. Quero também referir a amabilidade em boleias e o convívio que sempre promoveu entre o pessoal de laboratório, de modo a fomentar um excelente ambiente de trabalho e cooperação entre todos.

Agradeço também aos meus tios e prima pela disponibilidade incansável em oferecer-me estadia e tudo o que necessitava a cada semana em que me deslocava a Lisboa. Pela disponibilidade, carinho e todo o suporte que sempre demonstraram, incluindo no meu primeiro ano de mestrado e de adaptação a uma nova cidade. Sem eles teria sido impossível.

Agradeço também especialmente aos meus colegas de laboratório que me acompanharam neste percurso e que foram essenciais:

À Sofia, que me recebeu muito bem e, como colega mais experiente, ajudou-me bastante no laboratório, desde o primeiro dia até à data da sua despedida. Particularmente nas primeiras semanas, foi o meu grande pilar em laboratório e sem o seu apoio e inesgotável gentileza, com certeza que tudo teria sido muito diferente e mais complicado;

À Cristiana, que me apoiou muito, até porque me ajudou a limpar o meu primeiro e único material de vidro partido, no meu primeiro dia de trabalho. Agradeço-lhe principalmente o seu afeto e sorrisos e por ter sido a minha grande companheira de horas tardias em laboratório, porque ela esperava gentilmente por mim para sairmos juntos, num horário em que todos já tinham regressado a casa;

À Carolina, minha colega de mestrado, com quem desenvolvi uma ligação de cumplicidade, de quem se entende melhor do que ninguém, particularmente nas alturas

de maior stress. Agradeço não só pela companhia e pelos momentos de desconpressão com que me apoiava em laboratório, mas também por toda a ajuda e solidariedade demonstradas através de mensagens à distância;

À Joacy, outra das colegas de mestrado, pela disponibilidade demonstrada para ajudar em qualquer questão relacionada com o trabalho, pela simpatia e palavras de incentivo.

Agradeço também a todas as pessoas presentes no edifício do laboratório que, indiretamente ou pontualmente me prestaram qualquer tipo de auxílio, algumas das quais, talvez eu nunca tenha chegado a saber o nome. Ainda assim, presto aqui o meu agradecimento para todas essas pessoas.

Ao Dr. João Paiva e ao Dr. André Miranda da Empresa Portuguesa das Águas Livres (EPAL) quero agradecer a determinação de alguns minerais nas amostras de caracóis.

Ao Dr. Alexandre Rodrigues e Dra. Andreia Videira da EPAL quero agradecer a determinação dos pesticidas nas amostras de caracóis.

À Dra. Ana Paulino e Dra. Célia Revez do Laboratório de Águas do Litoral Alentejano (LALA) quero agradecer a disponibilidade para a determinação de alguns minerais nas amostras.

Por último, mas mais importante que tudo, o apoio da minha família e amigos que me acompanharam ao longo de todo o processo, que lidaram comigo diariamente e que permitiram seguir este caminho e nunca desistir nos momentos mais complicados.

Índice

Resumo	i
Abstract	iii
Agradecimentos	v
Índice	vii
Índice de tabelas	xiii
Índice de figuras	xv
Símbolos, siglas, acrónimos e abreviaturas	xvii
Introdução	1
Capítulo I. Caracol: caracterização, distribuição, consumo, valor nutricional e toxicidade	7
1. Caracterização da classe	7
1.1. Descrição geral e anatómica.....	7
1.2. Ecologia e alimentação.....	10
1.3. Reprodução e desenvolvimento.....	12
2. Principais espécies edíveis.....	15
2.1. Espécies da família <i>Helicidae</i>	17
2.1.1. <i>Helix aspersa</i>	17
2.1.2. <i>Helix pomatia</i>	18
2.1.3. <i>Otala lactea</i>	20
2.1.4. <i>Theba pisana</i>	21
2.2. Espécies da família <i>Achatinidae</i>	22
2.2.1. <i>Achatina fulica</i>	22
2.3. Distribuição das várias espécies em Portugal	23
3. Consumo mundial e nacional.....	24
4. Valor nutricional.....	31
5. Toxicidade	37
5.1. Aspectos gerais	37
5.2. Metais	40
5.3. Pesticidas	47
Capítulo II. Metodologias analíticas	51
1. Determinação de gordura	51

1.1. Extração da gordura por Soxhlet	54
2. Determinação de Proteínas	55
2.1. Método de Kjeldahl	57
3. Determinação de hidratos de carbono	59
4. Determinação de água.....	64
5. Determinação de cinzas.....	65
6. Determinação de minerais	66
6.1. Espectrofotometria de absorção atômica por chama (FAAS)	70
6.2. Espectrofotometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS) ...	71
6.3. Espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-AES) .	72
6.4. Espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) ..	73
6.5. Determinação de metais pesados	75
7. Determinação de vitaminas.....	77
8. Determinação de resíduos de pesticidas.....	79
Capítulo III. Procedimento experimental	85
1. Equipamento e material	85
1.1. Equipamento.....	85
1.1.1. Equipamento para a análise de pesticidas	86
1.1.2. Equipamento para a análise de metais	86
1.2. Material	86
2. Reagentes e soluções.....	87
2.1. Reagentes.....	87
2.1.1. Gerais	87
2.1.2. Padrões	89
2.2. Soluções	89
2.2.1. Açúcares totais	89
2.2.2. Cálcio e magnésio.....	90
2.2.3. Ferro	90

2.2.4.	Fluoretos.....	90
2.2.5.	Fósforo	90
2.2.6.	Gordura total.....	91
2.2.7.	Proteínas	91
2.2.8.	Metais.....	91
2.2.9.	Pesticidas	91
2.2.10.	Vitamina C.....	91
2.2.11.	Zinco	92
3.	Amostras	92
4.	Técnicas.....	93
4.1.	Considerações gerais	93
4.2.	Pré-tratamento da amostra	94
4.3.	Métodos gravimétricos ou por cálculo	98
4.3.1.	Cinza total.....	98
4.3.2.	Hidratos de carbono totais	99
4.3.3.	Matéria seca	99
4.3.4.	Matéria gorda total.....	100
4.4.	Métodos volumétricos	102
4.4.1.	Cálcio	102
4.4.2.	Magnésio	103
4.4.3.	Proteína	105
4.5.	Métodos potenciométricos e nefelométricos	106
4.5.1.	pH.....	106
4.5.2.	Condutividade, salinidade e sólidos dissolvidos totais	107
4.5.3.	Fluoretos.....	107
4.5.4.	Metais.....	108
4.5.5.	Turvação.....	108
4.6.	Métodos espectrofotométricos	108

4.6.1. Determinação da vitamina C	108
4.6.2. Açúcares totais	109
4.6.3. Ferro	110
4.6.4. Fósforo.....	111
4.6.5. Zinco	112
4.7. Espectrometria de plasma indutivo (ICP-MS) e de emissão atômica por plasma acoplado (ICP-AES).....	113
4.7.1. Metais	113
4.8. Métodos cromatográficos	114
4.8.1. Pesticidas.....	114
Capítulo IV. Resultados e discussão	117
1. Preparação da amostra.....	117
2. Caracterização da água	119
3. Matéria seca e macronutrientes dos caracóis	127
3.1. Matéria Seca.....	127
3.2. Proteínas.....	129
3.3. Matéria gorda total	132
3.4. Hidratos de carbono.....	134
3.4.1. Totais	134
4. Micronutrientes	138
4.1. Cinzas totais	138
4.2. Minerais	140
4.2.1. Cálcio.....	142
4.2.2. Fósforo.....	143
4.2.3. Magnésio	145
4.2.4. Ferro	146
4.2.5. Zinco.....	147
4.2.6. Metais tóxicos	149

4.3. Vitamina C	151
5. Pesticidas	153
6. Avaliação geral	154
6.1. Impacte da confeção.....	154
6.2. Potencial nutricional do consumo de <i>Otala lactea</i> e <i>Theba pisana</i>	158
7. Controlo de qualidade interno.....	160
Capítulo V. Conclusões e perspetivas futuras	163
Bibliografia e referências bibliográficas	167
Anexos	177
Anexo I – Energias de colisão usadas nas transições MRM1 e MRM2 para cada pesticida..	177
Anexo II – Composição de um caldo de galinha da marca <i>Knorr</i>	178
Anexo III – Composição de caracóis embalados prontos a consumir da marca <i>Casa dos caracóis</i>	178
Anexo IV – Composição de caracóis embalados prontos a consumir da marca <i>CaracoletAlentejana</i>	178

Índice de tabelas

Tabela 1	Dados de diferentes tabelas nutricionais referentes a caracóis.	36
Tabela 2	Principais efeitos de toxicidade crónica por ingestão de alguns metais pesados mais representativos.	45
Tabela 3	Nível de risco mínimo estimado para a exposição oral para diferentes metais (mg/kg/dia).	46
Tabela 4	Principais propriedades de toxicidade de organoclorados, organofosforados, carbamatos, triazinas, piretróides.	48
Tabela 5	Principais problemas de toxicidade aguda e crónica de diferentes grupos de pesticidas.	49
Tabela 6	Principais vantagens e limitações de métodos clássicos de extração de gordura em carnes.	52
Tabela 7	Diferentes estudos de determinação de matéria gorda total em caracóis terrestres.	54
Tabela 8	Diferentes estudos de determinação de proteínas em caracóis terrestres.	56
Tabela 9	Vantagens e desvantagens do método de Kjeldahl e de Lowry para a determinação de proteínas em caracóis.	57
Tabela 10	Diferentes estudos de determinação de hidratos de carbono em caracóis terrestres.	61
Tabela 11	Teor de hidratos de carbono (HC) totais calculados por diferença segundo resultados de vários estudos nutricionais de caracóis terrestres	61
Tabela 12	Vantagens e desvantagens dos principais métodos para a determinação de açúcares.	63
Tabela 13	Diferentes estudos de determinação de teor de água em caracóis terrestres.	65
Tabela 14	Diferentes estudos de determinação de teor de cinzas totais em caracóis terrestres.	66
Tabela 15	Diferentes estudos de determinação de minerais em caracóis terrestres.	68
Tabela 16	Comparação entre métodos sensíveis mais utilizados para a determinação de minerais em caracóis.	70
Tabela 17	Principais vantagens e desvantagens da FAAS na análise de minerais e metais.	71
Tabela 18	Principais vantagens e desvantagens da GFAAS na análise de minerais e metais.	72
Tabela 19	Principais vantagens e desvantagens da ICP-AES na análise de minerais e metais.	73
Tabela 20	Principais vantagens e desvantagens da ICP-MS na análise de minerais e metais.	74

Tabela 21	Análise de metais em caracóis terrestres: espécie, método, metal(s) e concentração.	76
Tabela 22	Diferentes estudos de determinação de vitaminas em caracóis terrestres.	78
Tabela 23	Principais vantagens e desvantagens da determinação de vitaminas por HPLC e espectrofotometria.	79
Tabela 24	Principais vantagens e desvantagens da quantificação de vitaminas por HPLC e GC.	82
Tabela 25	Diferentes estudos de determinação de pesticidas em caracóis terrestres.	83
Tabela 26	Condições da eluição por gradiente. A – Solução metanol/água (1:9); B – Solução metanol/água (9:1).	115
Tabela 27	Condições de operação do espectrômetro de massa.	115
Tabela 28	Massa total, massa edível e massa das cascas do caracol <i>Theba pisana</i> (<i>Tp</i> e <i>Tp_C</i>) e da caracoleta riscada <i>Otala lactea</i> (<i>Ol</i> e <i>Ol_C</i>), e respectivos volumes de água.	117
Tabela 29	Caracterização das águas de fervura e de cozedura da caracoleta riscada <i>Otala lactea</i> e do caracol <i>Theba pisana</i> .	120
Tabela 30	Concentração de minerais em caracoleta riscada <i>Otala lactea</i> e caracol <i>Theba pisana</i> fervidos (<i>Ol</i> e <i>Tp</i>) e cozinhados (<i>Ol_C</i> e <i>Tp_C</i>).	141
Tabela 31	Limites de quantificação (LQ) do método de LLE-HPLC-MS/MS para a análise de 23 pesticidas ($\mu\text{g}/100\text{ g}$).	154
Tabela 32	Nutrientes e elementos que subiram e desceram de concentração nas amostras confeccionadas de ambas as espécies.	155
Tabela 33	Principais resultados obtidos para carne das espécies <i>Otala lactea</i> e <i>Theba pisana</i> fervidas (<i>Ol</i> e <i>Tp</i>) e confeccionadas (<i>Ol_C</i> e <i>Tp_C</i>).	158
Tabela 34	Tabela nutricional obtida para as espécie <i>Otala lactea</i> e <i>Theba pisana</i> confeccionadas (considerado a concha) e respectivos valores diários de consumo (%VD).	159
Tabela 35	Principais resultados inerentes ao controlo de qualidade interna dos parâmetros nutricionais estudados.	161
Tabela 36	Principais resultados inerentes ao controlo de qualidade interna dos parâmetros nutricionais para as águas.	161

Índice de figuras

Figura 1	Anatomia de um caracol terrestre pulmonado.	8
Figura 2	Nidificação e postura de ovos de <i>Helix pomatia</i> .	14
Figura 3	Espécie de caracol gigante africano.	16
Figura 4	Espécie de caracol <i>Helix aspersa</i> .	17
Figura 5	Espécie de caracol <i>Helix pomatia</i> .	19
Figura 6	<i>Escargot de Bourgogne</i> tipicamente servido na gastronomia francesa.	19
Figura 7	Espécie de caracol <i>Otala lactea</i> .	20
Figura 8	Espécie de caracol <i>Theba pisana</i> .	21
Figura 9	Distribuição da <i>Theba pisana</i> por países europeus.	22
Figura 10	Distribuição da <i>Theba pisana</i> e <i>Otala lactea</i> na Península Ibérica.	23
Figura 11	Países com maior consumo de caracol <i>per capita</i> , em kg, em 2016.	26
Figura 12	Registo de importações e exportações de caracóis em Portugal, de 2010 a 2017.	27
Figura 13	Maiores importadores de caracóis, por milhares de toneladas, em 2016.	29
Figura 14	Fluxo das trocas comerciais de caracóis, em toneladas, em 2016.	30
Figura 15	Principais propriedades nutricionais apontadas à carne de caracol.	35
Figura 16	Principais propriedades dos metais que podem levar a danos na saúde humana.	42
Figura 17	Sistemas e órgãos mais afetados por diferentes metais pesados no corpo humano por via oral.	44
Figura 18	Lista de resíduos pesticidas quantificados nos caracóis.	50
Figura 19	Montagem do aparelho de Soxhlet para a extração de gordura total do alimento.	55
Figura 20	Caracóis expostos na arca frigorífica na loja <i>Casa dos caracóis</i> : A) <i>Theba pisana</i> (caracol) e B) <i>Otala lactea</i> (caracoleta riscada).	93
Figura 21	Etapas do pré-tratamento das amostras de caracóis crus.	94
Figura 22	Etapas de pré-tratamento da amostra para a determinação dos minerais.	96
Figura 23	Etapas do pré--tratamento das amostra para a quantificação de açúcares totais.	97

Figura 24	Etapas do pré-tratamento das amostras de caracóis para a análise de resíduos pesticidas por HPLC-MS.	98
Figura 25	Massa edível das diferentes amostras de caracol: Caracoleta riscada <i>Otala lactea</i> e caracol <i>Theba pisana</i> após fervura (<i>Ol</i> e <i>Tp</i>) e cozinhados (<i>Ol_C</i> e <i>Tp_C</i>).	118
Figura 26	Teor médio de minerais Al e Fe (a) e Cd, Pb, Cr e Ni (b) nas águas de fervura (<i>H2O_Ol</i> e <i>H2O_Tp</i>) e de confeção (<i>H2O_Ol_C</i> e <i>H2O_Tp_C</i>).	124
Figura 27	Matéria seca nas amostras de <i>Otala lactea</i> e <i>Theba pisana</i> , fervidas (<i>Ol</i> e <i>Tp</i>) e cozinhadas (<i>Ol_C</i> e <i>Tp_C</i>), valor percentual, n = 5.	127
Figura 28	Teor médio de água nas amostras de <i>Otala lactea</i> e <i>Theba pisana</i> , fervidas (<i>Ol</i> e <i>Tp</i>) e cozinhadas (<i>Ol_C</i> e <i>Tp_C</i>), n = 5.	128
Figura 29	Teor médio de proteína em <i>Otala lactea</i> e <i>Theba pisana</i> , fervidas (<i>Ol</i> e <i>Tp</i>) e confeccionadas (<i>Ol_C</i> e <i>Tp_C</i>), expresso em produto fresco, n = 6.	130
Figura 30	Teor médio em matéria gorda total em <i>Otala lactea</i> e <i>Theba pisana</i> , fervidas (<i>Ol</i> e <i>Tp</i>) e cozinhadas (<i>Ol_C</i> e <i>Tp_C</i>), n = 6 .	132
Figura 31	Teor médio de hidratos de carbono (a) e de açúcares redutores (b) nas amostras de caracoleta riscada <i>Otala lactea</i> e do caracol <i>Theba pisana</i> , fervidas (<i>Ol</i> e <i>Tp</i>) e cozinhadas (<i>Ol_C</i> e <i>Tp_C</i>).	135
Figura 32	Teor de cinzas nas amostras de caracoleta riscada <i>Otala lactea</i> e do caracol <i>Theba pisana</i> , fervidas (<i>Ol</i> e <i>Tp</i>) e cozinhadas (<i>Ol_C</i> e <i>Tp_C</i>), n = 5.	138
Figura 33	Teor de vitamina C nas amostras de caracoleta riscada <i>Otala lactea</i> e caracol <i>Theba pisana</i> fervidas (<i>Ol</i> e <i>Tp</i>) e cozinhadas (<i>Ol_C</i> e <i>Tp_C</i>).	152

Símbolos, siglas, acrónimos e abreviaturas

AAS	“Atomic Absorption Spectrometry”, espectrofotometria de absorção atômica
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AE-HPLC	“Anion-Exchange High-Performance Liquid Chromatography”, cromatografia líquida de alta eficiência de troca aniônica
AGMI	Ácidos Gordos Monoinsaturados
AGPI	Ácidos Gordos Polinsaturados
AGS	Ácidos Gordos Saturados
AMPA	“Aminomethylphosphonic acid”, ácido aminometilofosfónico
ANSES	“Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail”, agência francesa de alimentos, meio ambiente e saúde e segurança ocupacional
AOAC	“Association of Official Analytical Chemists”, associação oficial de químicos analíticos
ASV	“Anodic stripping voltammetry”, voltametria de redissolução anódica
ATSDR	“Agency for Toxic Substances and Disease Registry”, agência para o registo de substâncias tóxicas e doenças
BAS	“Bureau of Assessment Services”, gabinete de serviços de avaliação
BCA	“Bicinchoninic acid”, ácido bicinconínico
CE	Comissão Europeia
Cond	Condutividade
CQI	Controlo de Qualidade Interno
CVm	Coeficiente de variação do método
d.C.	Depois de Cristo

DDR	Dose Diária Recomendada
DGS	Direção-Geral da Saúde
2,6-DCFIF	2,6-Diclorofenol-indofenol
DPR	Desvio Padrão Relativo
EAM	Espetrofotometria de Absorção Molecular
EDTA	“Ethylenediaminetetraacetic acid”, ácido etilenodiamino tetra- acético
EFSA	“European Food Safety Authority”, autoridade europeia para a segurança alimentar
EN	“European Norm”, Norma Europeia
EPAL	Empresa Portuguesa das Águas Livres
FAAS	“Flame Atomic Absorption Spectrometry”, espectrofotometria de absorção atômica com chama
FAO	“Food and Agricultural Organization”, organização para a alimentação e agricultura
FAOSTAT	“Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database”, base de dados da organização das nações unidas para a alimentação e a agricultura
FDA	“Food and Drug Administration”, agência norte americana para os medicamentos e alimentos
FID	“Flame Ionization Detector”, detetor de ionização de chama
GC	“Gas chromatography”, cromatografia em fase gasosa
GFAAS	“Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry”, espectrofotometria de absorção atômica com câmara de grafite
HDL	“High Density Lipoprotein”, lipoproteína de alta densidade
HPLC	“High-Performance Liquid Chromatography”, cromatografia líquida de alta eficiência

IARC	“International Agency for Research on Cancer”, agência internacional de investigação sobre o cancro
ICP-AES	“Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry”, espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente
ICP-MS	“Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry”, espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente
ISO	“International Standard Organization”, organização internacional de normalização
LA-ICP-MS	“Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry”, ablação a laser associada à espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente
LC	“Liquid chromatography”, cromatografia líquida
LD	Limite de deteção
LC-ICP-MS	“Liquid Chromatography–Inductively Coupled Plasma–Mass Spectrometry”, cromatografia líquida associada à espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente
LLE	“Liquid-Liquid Extraction”, extração líquido-líquido
LQ	Limite de quantificação
MGT	Matéria Gorda Total
MRM	“Multiple Reaction Monitoring”, operação em modo SIM no primeiro quadrupolo e modo SIM no terceiro quadrupolo
MRM1	Resultado da primeira transição do ião precursor a ião produto, no primeiro quadrupolo
MRM2	Resultado da segunda transição do ião precursor a ião produto, no segundo quadrupolo
MS	“Mass Spectrometry”, espectrometria de massa
MS/MS	“Tandem mass spectrometry”, espectrometria de massa <i>tandem</i>

n	Número de réplicas de ensaio para cada amostra
N	Número de pontos experimentais na reta de calibração
NAA	“Neutron Activation Analysis”, análise por ativação com neutrões
NP	Norma Portuguesa
OI	Caracoleta riscada <i>Otala lactea</i> fervida
OI_C	Caracoleta riscada <i>Otala lactea</i> confeccionada
OMS	Organização Mundial da Saúde
Prot	Proteínas
p.a.	Pró-análise
R ²	Coeficiente de determinação da reta
Rec	Recuperado
RS	Resíduo Seco
Sal	Salinidade
SIM	“Selected Ion Monitoring”, monitorização seletiva de iões
SMEWW	“Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater”, métodos padrão para a análise de água e água residual
SPE	“Solid-phase Extraction”, extração em fase sólida
TISAB	“Total Ionic Strength Adjustment Buffer”, solução tampão e de ajuste da força iónica
TDS	“Total Dissolved Salts”, sólidos totais dissolvidos
Tp	Caracol <i>Theba pisana</i> fervido
Tp_C	Caracol <i>Theba pisana</i> confeccionado
Turv	Turvação
UN	“United Nations”, Organização das Nações Unidas
UNT	Unidades Nefelométricas de Turvação
US	“United States”, Estados Unidos

USDA	“United States Department of Agriculture”, departamento de agricultura dos Estados Unidos
UV	Ultravioleta
UV-VIS	Ultravioleta-visível
VD	Valor Diário
VRN	Valor de referência do nutriente
WHO	“World Health Organization”, organização mundial da saúde
XRF	“X-Ray Fluorescence”, fluorescência de raios X

Introdução

No reino animal, *Mollusca* é a segunda maior divisão, representando uma grande parte da fauna mundial. Na classe dos gastrópodes incluem-se os denominados caracóis terrestres, da ordem *Pulmonata*, na qual são descritas quase 35 mil espécies diferentes em todo o mundo (1). Os caracóis terrestres, vulgarmente designados por “caracóis”, são os moluscos gastrópodes com casca espiralada que vivem em ambiente terrestre. Em termos evolutivos, correspondem a descendentes de gastrópodes marinhos ancestrais (1).

Algumas das espécies comestíveis da família mais representativa (*Helicidae*) incluem as espécies *Theba pisana*, *Helix pomatia*, *Helix aspersa* ou *Otala lactea* (2). *Achatinidae* é outra família de caracóis terrestres muito apreciada, nomeadamente em África (2).

A utilização destas espécies como alimento é uma tendência mundial originada e explorada pelos povos mediterrânicos, mas o seu consumo é remetido a períodos ancestrais da pré-história (3,4).

Maioritariamente consumidos na Europa mediterrânica (França, Portugal, Espanha, Itália, Grécia...) e em alguns países do continente africano (Nigéria, Marrocos, Gana, Costa do Marfim...), os caracóis terrestres representam um produto alimentar em expansão económica e que se começa a alastrar a todos os continentes (3,5,6). Da cultura gastronómica francesa, o termo *escargot* é muito utilizado para denominar espécies de caracóis tipicamente francesas, representando refeições mundialmente reconhecidas, como por exemplo, o *escargot de Bourgogne* (2).

Em Portugal, a maioria dos caracóis consumidos provém de Marrocos (5,7), sendo a espécie *Theba pisana*, nativa do mediterrâneo, a mais consumida na península Ibérica (8,9). Outra das espécies mais consumidas é a caracoleta riscada *Otala lactea* (9).

Só em Portugal, o consumo da espécie de caracóis *Theba pisana* atinge anualmente cerca de 4000 toneladas (10), sendo um produto alimentar relevante na dieta dos portugueses e representando um mercado em crescendo e de grande dimensão económica (11). O Grupo Francisconde, o maior produtor de caracóis do país, comercializa anualmente, da mesma espécie, cerca de duas mil toneladas em território nacional (7).

Embora seja uma iguaria muito apreciada, as aplicações culinárias, as características alimentares e as suas propriedades nutricionais apresentam ainda uma grande margem de exploração (12).

Das principais características nutricionais da carne de caracol apontadas pela comunidade científica, destacam-se o seu elevado teor proteico, baixo teor calórico devido a pouco conteúdo lipídico e de hidratos de carbono, um elevado teor em minerais essenciais e também a presença de vitaminas lipossolúveis e do complexo B (12). Outros fatores benéficos apontados são o teor em gorduras insaturadas e em aminoácidos essenciais (13,14).

O potencial nutricional apontado à carne de caracol tem como principal vantagem todos os nutrientes essenciais na sua constituição, que sugerem efeitos benéficos na saúde dos consumidores (12,15).

Globalmente, num planeta em que o aumento global da população se tem vindo a acentuar e em que a exploração de novos recursos alimentares ganha grande relevo, os caracóis podem representar uma importante fonte proteica alternativa e um elemento de ainda maior interesse nas dietas (12,13). Também sob o ponto de vista dietético, o seu consumo poderá ser considerado uma opção em detrimento de outros alimentos com maiores teores calóricos (12,13).

No entanto, a persistência de minerais tóxicos no ambiente, incluindo nos solos, vegetação e água, torna os caracóis terrestres um dos organismos vivos suscetíveis à bioacumulação de elementos poluentes e tóxicos, que poderão hipoteticamente criar preocupações à saúde humana inerentes ao consumo de caracóis contaminados (16).

Como recurso natural do mundo mediterrânico e face ao seu consumo em Portugal, um dos mais elevados no mundo, é imperativo o estudo do potencial nutritivo e o risco tóxico associado à ingestão dos principais caracóis consumidos no país. A informação nutricional disponível para as espécies mais consumidas em Portugal é escassa e adquire uma importância ainda mais especial por esse fator.

O objetivo principal deste trabalho é a caracterização físico-química e nutricional da caracoleta riscada *Otala lactea* e dos caracóis terrestres *Theba pisana*, crus e cozinhados, de modo a avaliar o perfil alimentar deste petisco tipicamente consumido em território nacional, bem como o efeito que o processo de cozedura tem nas suas características nutricionais e físico-químicas. Estas avaliações englobam a determinação de vários parâmetros, nomeadamente, o teor de água, proteína total, lípidos, hidratos de carbono,

cinza, resíduo seco e minerais essenciais e nutritivos. Paralelamente, serão quantificados também vários minerais não nutritivos e, no âmbito de uma breve avaliação toxicológica, alguns metais tóxicos (arsénio, cádmio e chumbo) e resíduos de pesticidas. Alguns parâmetros também serão quantificados para as águas de fervura e confeção dos caracóis, de forma a avaliar quais as potenciais perdas de nutrientes para o meio de confeção ou qual o potencial nutricional do caldo associado aos caracóis cozinhados, que é também parcialmente ou totalmente ingerido.

A determinação dos vários parâmetros será realizada maioritariamente de acordo com os métodos oficiais da AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*), nomeadamente, o método de Kjeldahl (proteínas), método por cálculo (hidratos de carbono), método gravimétrico com extração por Soxhlet (lípidos totais) e resíduo seco a 105 °C (determinação do teor total de água). Os minerais totais serão quantificados através da determinação das cinzas (método gravimétrico com incineração a 550 °C). Os macrominerais e microminerais, essenciais, não nutritivos ou tóxicos, serão determinados maioritariamente por espectrofotometria de absorção molecular e espectrometria de emissão atómica por plasma acoplado (ICP-AES) ou espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente (ICP-MS), respetivamente.

As fases preliminares do trabalho incluem a adequada seleção das amostras a analisar, de acordo com a sua origem e comercialização em Portugal, preparação das amostras e a implementação e otimização de todos os métodos utilizados no estudo.

Após a caracterização nutricional e físico-química dos caracóis, pretende-se realizar uma breve avaliação acerca da sua toxicidade, com base nos resultados dos parâmetros tóxicos.

Os resultados obtidos poderão vir a dar uma nova perspetiva aos consumidores de caracol, bem como à comunidade científica e todo o mercado económico (produtores, comerciantes, empreendedores...), de modo a estimular a exploração das espécies *Theba pisana* e *Otala lactea* para consumo e a comparação a alternativas existentes no mercado. Também permitirá informar os consumidores sobre o contributo nutricional de cada espécie na dieta, bem como avaliar a segurança do alimento relativamente a riscos de intoxicações, nomeadamente pela presença de metais pesados ou resíduos de pesticidas. Melhores formas de confeção também poderão ser moderadamente avaliadas pela comparação de resultados entre amostras fervidas e cozinhadas. As principais

diferenças entre as duas espécies também poderão ser determinadas, de modo a perceber quais as principais vantagens do consumo de cada espécie.

De modo a facilitar a contextualização e compreensão de todo o estudo desenvolvido, o conteúdo da presente tese foi estruturado e dividido em diferentes capítulos, relativos à vertente teórica e experimental do trabalho. Os dois primeiros capítulos abordam a parte teórica e de maior pesquisa bibliográfica.

O capítulo I abrange toda a informação relevante acerca dos caracóis terrestres, de forma a definir o animal em estudo e demonstrar a relevância das análises experimentais e pesquisas desenvolvidas posteriormente. O capítulo é extenso e divide-se em cinco grandes secções:

- A caracterização do animal, onde são descritas informações gerais, nomeadamente, a anatomia, a ecologia, a alimentação e a reprodução dos caracóis;
- A descrição das principais espécies edíveis existentes no mundo e a sua distribuição em Portugal;
- A avaliação do consumo internacional e nacional dos caracóis e a demonstração da sua importância numa vertente económica e alimentar;
- A descrição do valor nutricional associado à carne de caracol e os benefícios com base na informação científica disponível;
- A apresentação dos potenciais e principais riscos toxicológicos associados ao consumo de caracóis.

O capítulo II centra-se na abordagem das principais metodologias analíticas aplicadas na avaliação nutricional de caracóis terrestres, compilando vários estudos e as metodologias utilizadas por diferentes autores.

Os capítulos III, IV e V representam a secção experimental.

No capítulo III são descritos todos os métodos de pré-tratamento e de quantificação, englobando também o equipamento, materiais, reagentes e soluções pertinentes nos procedimentos normativos adotados e as principais fórmulas de conversão de resultados para cada parâmetro.

No capítulo IV são apresentados e discutidos os resultados.

O capítulo V sintetiza as principais conclusões e perspectiva tendências para o futuro e novas abordagens a explorar relativamente ao consumo e à investigação dos caracóis terrestres.

Capítulo I. Caracol: caracterização, distribuição, consumo, valor nutricional e toxicidade

1. Caracterização da classe

1.1. Descrição geral e anatômica

Dentro do reino animal, o filo *Mollusca* (do latim *molluscus*, mole) constitui um grande grupo de animais invertebrados marinhos, de água doce ou terrestres. Os moluscos são o segundo maior filo ou divisão do reino animal, representando uma grande parte da fauna mundial. A classe *Gastropoda* (ou dos gastrópodes) é uma grande classe taxonômica do filo *Mollusca* que agrupa os animais conhecidos por caracóis, lesmas, lapas e búzios, e que inclui 65000 - 80000 espécies extantes, com grande variedade morfológica e tamanhos que vão do submicroscópico a várias dezenas de centímetros (17,18). Neste grupo incluem-se os denominados caracóis terrestres pulmonados, no qual são descritas quase 35 mil espécies diferentes em todo o mundo (1). Em termos evolutivos, correspondem a descendentes de gastrópodes marinhos ancestrais (1).

Os vulgarmente designados caracóis, são animais invertebrados, moluscos gastrópodes de corpo mole revestido por uma concha espiralada calcária e que vivem em ambiente terrestre, abrangendo um vasto número de famílias, géneros e espécies. Os caracóis apresentam uma constituição anatômica interna complexa (Figura 1). O corpo, protegido pela concha, está dividido em três partes: a cabeça, o pé e a massa visceral (19).

Na cabeça, os caracóis possuem dois pares de tentáculos retráteis. Os tentáculos superiores, mais largos, são designados de tentáculos oculares, já que albergam os olhos nas suas extremidades, enquanto os tentáculos inferiores permitem a deteção de odores e são também referidos como tentáculos orais ou sensoriais. A boca encontra-se abaixo destes órgãos. Na boca, uma mandíbula superior corta o alimento, e é através de uma estrutura designada de rádula, na parte inferior da boca e constituída por finas filas de dentição curva e quitinosa, que os caracóis raspam os alimentos que são então ingeridos através do esófago (20). Caso os tentáculos ou o próprio pé sejam parcialmente perdidos ou danificados, os caracóis possuem a capacidade de regenerá-los, além de conseguirem também renovar os dentes presentes na rádula (21).

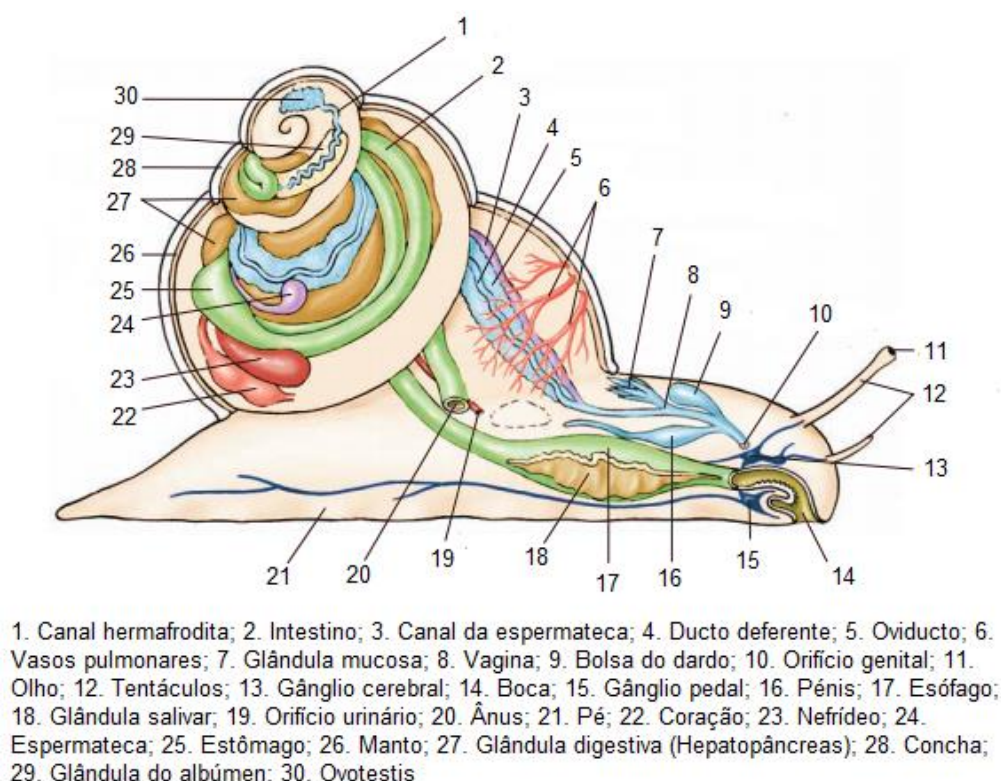


Figura 1 – Anatomia de um caracol terrestre pulmonado, adaptado de Hickman Jr. C. *et al.*, 2008 (19).

Na superfície dorsal, os caracóis possuem uma importante estrutura designada de manto, cuja principal função é segregar compostos necessários à construção e reparação da sua concha, nomeadamente o carbonato de cálcio. O manto é constituído por duas pregas de pele, com uma conformação mais grossa junto à abertura da casca onde será segregado o carbonato de cálcio para ser adicionado em volta da abertura, na fase de formação e desenvolvimento da concha (19,22). Na prega que delimita e reveste a face interna da concha, o manto é mais estreito (20,21).

A massa visceral protegida parcialmente pelo manto é constituída por vários órgãos e está sempre dentro da concha. Nas espécies terrestres pulmonadas, o sistema respiratório, circulatório, urinário, reprodutor, digestivo e urinário, assim como os respetivos órgãos vitais, como por exemplo, o coração, o estômago, o fígado, o pulmão, a glândula genital e o intestino, estão alojados nesta massa visceral (21).

Em ambiente terrestre, os caracóis tiveram de desenvolver meios de respiração alternativos. Os seus pulmões, representam na verdade um espaço muito vascularizado entre o manto e o corpo do caracol, também conhecido como cavidade do manto ou cavidade paleal. São as contrações do manto que permitem que esta área se encha de ar, sendo estabelecida a ligação com o meio exterior através do pneumóstoma, um poro respiratório que serve como entrada aos pulmões e através do qual se realizam as trocas gasosas. O pneumóstoma encontra-se junto da extremidade do manto, na face direita do caracol e posterior ao ânus (19–21).

É na cavidade do manto que se dá a oxigenação da hemolinfa, que circula em sistema aberto. O coração, constituído por um ventrículo e uma aurícula envoltos na membrana pericárdica, recebe e bombeia a hemolinfa através dos vasos do sistema (19,22).

Como parte do sistema digestivo incluem-se, além da boca e da rádula, as glândulas salivares, o esófago, os intestinos proximal e distal, o estômago, o reto e o hepatopâncreas, uma glândula volumosa responsável por segregar enzimas digestivas para o estômago e que também armazena substâncias absorvidas, tais como glicogénio, cálcio ou gorduras (22,23). É devido à largura do intestino e à sua flexão, que o ânus abre na zona abaixo do pneumóstoma (24).

O sistema nervoso é um sistema complexo, composto por um conjunto de gânglios conectados, tal como o gânglio cerebral, o pleural, o visceral ou o pedal, que inervam todo o corpo através de cordões e células nervosas (19). A maioria destes gânglios dispõe-se perto da estrutura bucal (22). Como parte do sistema urinário, a maioria destes gastrópodes apresenta apenas um nefrídeo, que representa a função de um rim, cujo nefridióporo excretor de urina termina entre o ânus e o pneumóstoma (19).

Sendo os caracóis terrestres gastrópodes hermafroditas, possuem órgãos e aparelhos reprodutivos femininos e masculinos complexos, produzindo esperma, oócitos e ovos. A sua glândula reprodutora hermafrodita, contendo células germinativas masculinas e femininas, situa-se ao lado do hepatopâncreas e liga-se às restantes estruturas que compõem o sistema reprodutor (24). O orifício reprodutor do caracol, necessário à cópula e reprodução, situa-se atrás da base do tentáculo ocular direito (19).

O pé é a estrutura muscular na parte do ventre do animal, usado para se movimentar e aderir às superfícies (20). Através dos movimentos do pé, muitos caracóis terrestres têm a capacidade de escavar o solo, sendo uma prática muito utilizada para a deposição dos ovos (1).

Ao moverem-se, os caracóis libertam um muco produzido por células epiteliais, o qual protege o pé de lesões e origina o característico rasto de tom prateado associado aos caracóis (21).

Esse rasto de muco segregado através da glândula pedal nos caracóis em movimento, permite também, além da sua locomoção e adesão aos substratos, outras funções, nomeadamente, localização, rastreamento de parceiros da mesma espécie, combater a desidratação ou proteger o corpo contra certas substâncias nocivas. O muco produzido tem na sua composição polissacáridos com propriedades higroscópicas, responsáveis na prevenção da desidratação (1).

Todo o corpo do caracol e sistemas internos são revestidos pela concha, ligada e fixada através do músculo columelar, que é responsável pela capacidade do caracol se retrair no interior da concha sempre que seja necessário (22). As conchas são cobertas por uma camada externa de matéria orgânica, o perióstraco, que lhes oferece a sua cor característica e as protege de compostos ambientais nocivos (22). As conchas apresentam uma grande diversidade entre as diferentes espécies, diferindo no tamanho, forma, padrões (listrados ou uniformes), superfícies (mais lisas ou rugosas) e no número de espirais (três a seis) (1).

1.2. Ecologia e alimentação

Apesar dos caracóis serem essencialmente espécies noturnas, é frequente que eles saiam dos seus abrigos durante o dia, maioritariamente após a ocorrência de chuvas ou nos períodos de orvalho. Sendo animais de sangue frio, tornam-se bastante sensíveis a mudanças de temperatura e humidade do meio ambiente (25). Os seus hábitos noturnos devem-se assim principalmente às condições de humidade e temperatura associadas a esse período, mas também à baixa luminosidade (1,21). Excetuando os períodos mais frescos e húmidos, como a manhã e o final do dia, os caracóis manifestam geralmente pouca atividade locomotora, nutritiva e sexual durante as restantes horas diurnas, permanecendo principalmente em repouso (5).

Mesmo que possam ser encontrados em quase qualquer parte na natureza, os caracóis preferem habitats que ofereçam abrigos, zonas húmidas, abundância de alimentos e terrenos de pH neutro, que lhes permitam escavar, e ricos em cálcio, ou próximos a

qualquer outra fonte de cálcio alternativa (1,2). Um elevado teor de matéria orgânica nos terrenos também contribui favoravelmente para o seu crescimento e desenvolvimento. Os jardins, madeiras, campos, muros, paredes, planícies e áreas próximas a reservas de água doce ou do mar, são alguns exemplos dos locais e estruturas usualmente usados pelos caracóis como abrigos (2,21).

Embora os intervalos de humidade relativa e temperatura sejam diferentes para as diversas espécies de caracóis, em função dos respetivos ciclos biológicos e atividade, os meios mais propícios ao seu desenvolvimento têm, regra geral, elevados teores de humidade relativa (75% a 95%), associados a um clima temperado, com temperaturas entre os 15°C e os 25°C. Especificamente em relação aos solos que habitam, uma humidade a rondar os 80% é a mais indicada (2).

O fotoperíodo e o tempo ótimo de exposição à luz também são determinantes na vida e atividade destes animais, nomeadamente no que se refere à sua reprodução e crescimento (26).

Na procura de alimento em múltiplos contextos, também os hábitos alimentares dos caracóis podem variar com as espécies e as regiões, embora a sua dieta seja essencialmente vegetariana, predominando a ingestão de flores, folhas e vegetais suculentos, mas também, os seus resíduos ou materiais decompostos, alguns frutos e uma vasta variedades de plantas (1,2). Os caracóis mais jovens são mais propensos à ingestão de rebentos e material tenro, enquanto os mais velhos adotam gradualmente também a ingestão de detritos, como folhas caídas ou os alimentos em decomposição (25). Apenas em 24 horas, um caracol adulto pode ingerir 10%, e ocasionalmente até 20%, do seu peso corporal em alimentos, quando inserido nas condições mais prósperas. Caso os caracóis ativos permaneçam privados de alimentos, podem perder até um terço do seu peso corporal antes de sucumbirem, após 8 a 12 semanas (2).

As variações dos fatores ambientais diários e sazonais impostas pela natureza, como por exemplo a luminosidade, a humidade e a temperatura, podem afetar um conjunto de parâmetros vitais. A adaptação dos caracóis em resposta a essas flutuações torna-se muito importante e reflete-se na utilização de mecanismos endógenos face ao meio envolvente, os quais determinam padrões comportamentais, nomeadamente a alternância entre períodos de maior e menor atividade, incluindo a dormência (26).

Em épocas ou situações extremas, de condições ambientais e climatéricas adversas ou de falta de recursos alimentares, os caracóis tornam-se assim bastante adaptáveis e

possuem a capacidade de fechar a abertura da sua concha através da formação de uma membrana de muco calcificado, designado por epifragma, que irá prevenir a sua desidratação e protegê-los das condições exógenas, levando a que seja adotado um comportamento de estivação ou hibernação. Este estado de dormência pode permanecer durante anos, até que as condições ambientais voltem a tornar-se apropriadas (1).

A estivação é o termo referido à latência induzida pela falta de água ou devido a climas demasiado secos ou quentes, enquanto a hibernação se associa a baixas temperaturas desfavoráveis. Ambos se caracterizam-se pelo entorpecimento dos caracóis de forma a gastar menos energia e a sobreviver às condições adversas e falta de alimento enquanto se protegem no interior da sua concha (2,5).

Na hibernação, denota-se uma grande alteração no metabolismo do caracol, havendo um declínio das taxas metabólicas e funções biológicas. A sobrevivência depende das reservas de gordura e glicogénio, que são então utilizadas a um ritmo bastante desacelerado (21). No entanto, o processo de estivação, essencialmente associado às regiões de Verão bastante quente e seco, caracteriza-se principalmente pela inatividade do caracol remetido no interior da concha enquanto as reservas de água e energia são mais rapidamente esgotadas do que na hibernação, já que as taxas de respiração e do processo cardíaco são mantidas (5).

Normalmente, o processo de hibernação é preparado antes do Inverno, através da construção de um buraco onde o animal se irá cobrir com auxílio do muco e de outras matérias como folhas secas, permanecendo enterrado até estações mais quentes como a Primavera. O processo de hibernação pode também ocorrer em outros abrigos, como fendas, debaixo de pedras, madeiras ou outros recursos disponíveis. Também o processo de estivação pode ocorrer nesses mesmos e noutros variados locais, entre os quais, troncos, postes e outras estruturas e objetos em redor (21).

Para grande número de espécies de caracóis terrestres, a temperatura ideal encontra-se a cerca de 21°C. Abaixo de valores próximos dos 7°C, ocorre a hibernação, e subindo gradualmente acima dos 28°C, desencadeia-se a estivação (2).

1.3. Reprodução e desenvolvimento

Apesar de seres hermafroditas e possuidores de órgãos reprodutores masculinos e femininos, a fertilização dos ovos dos caracóis pulmonados terrestres não ocorre de forma

independente. A reprodução dá-se através da transferência de espermatozóides durante a copulação com um companheiro. No entanto, cada indivíduo poderá desempenhar o papel de fecundador, fecundado ou ambos em simultâneo durante o processo de acasalamento, que ocorre na sequência de várias horas de cortejo (2,19).

As fases da reprodução só se iniciam em condições favoráveis de elevada humidade. Após a copulação e nidificação em solo, dá-se a deposição dos ovos e inicia-se o desenvolvimento embrionário e a fase de incubação (1).

Os climas da região em que estão inseridos e as condições ambientais a que estão sujeitos, determinam a época do ano mais propícia ao início do acasalamento, que geralmente ocorre nos finais da Primavera ou inícios de Verão, podendo repetir-se durante essa mesma estação. O espermatozóide transferido durante o ato sexual pode ser armazenado até um ano, ainda que a postura dos ovos se inicie habitualmente logo no espaço de poucos dias ou semanas (2).

As condições e hábitos de postura podem, naturalmente, variar entre espécies, mas as condições do solo em que usualmente se realizam, são determinantes para qualquer exemplar de caracol. O solo será escavado a uma determinada profundidade mínima (2).

Também os ovos originados, de coloração esbranquiçada e esféricos, variam em número e tamanho de espécie para espécie (1). A sua eclosibilidade dependerá de importantes fatores característicos do ninho, como a sua composição, temperatura, e humidade. Tendo em conta as referências e orientações do ramo da helicicultura, incluem-se como valores ideais 20% a 40% de matéria orgânica nos solos, temperaturas entre os 18°C e os 27°C (preferencialmente por volta dos 21 °C), e 80% de humidade (2). A eclosão ocorre entre os 15 e os 40 dias após a postura (5), dependendo maioritariamente da temperatura a que a incubação se realizou. Assim, temperaturas mais baixas irão requerer mais tempo até que as crias abandonem os seus ovos (21).

A espécie *Helix pomatia*, por exemplo, põe ovos com cerca de 3 milímetros de diâmetro (2). Outras fontes apontam diâmetros superiores que podem chegar aos 7 milímetros, pelo que também são variáveis (27).

Para a desova, o caracol insere a sua cabeça no buraco escavado para a deposição dos ovos, ou rasteja até que apenas a sua concha permaneça exposta ao exterior. Os ovos são depois depositados através do orifício reprodutor presente atrás da cabeça (Figura 2). Num ou dois dias, são colocados entre 30 e 50 ovos e, ocasionalmente, existe

uma nova desova, semanas mais tarde (2). O ninho é então tapado com o auxílio da terra adjacente e do muco glicoproteico segregado pelo caracol.

As crias, depois de totalmente desenvolvidas, eclodem 3 a 4 semanas após a deposição dos ovos. Durante o Verão e a temperaturas amenas, alimentam-se e crescem no seu habitat, até darem início ao processo de hibernação no Inverno, como resposta às baixas temperaturas e à redução do tempo de luz solar diária, até à próxima Primavera, onde as condições voltam a estar mais favoráveis (2).

Noutras espécies, como por exemplo a *Helix aspersa*, depositam-se em média 85 ovos, em ninhos entre 2,5 e 3,8 centímetros de profundidade (2).

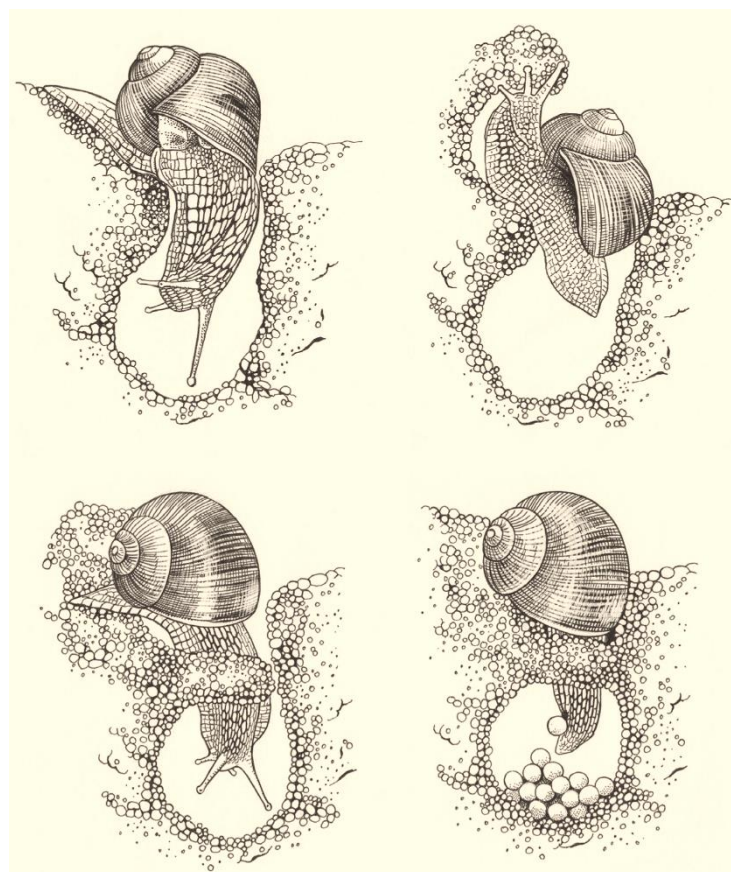


Figura 2 – Nidificação e postura de ovos de *Helix pomatia*, adaptado de Cameron R., 2016 (27).

Dentro da mesma população, as taxas de crescimento variam de elemento para elemento, assim como o tamanho final que podem alcançar. O crescimento dos caracóis

dependerá de fatores genéticos e também do meio em que estão inseridos, nomeadamente os recursos alimentares disponíveis, o *stress* a que estão sujeitos, a temperatura e a humidade (2). A presença de cálcio no ambiente que os rodeia é também uma das propriedades mais importantes na fase de crescimento dos caracóis. Consumos baixos de cálcio irão atrasar a sua taxa de crescimento e influenciar o desenvolvimento da sua casca, resultando em conchas mais finas (2). Ainda antes de eclodirem, a concha embrionária dos caracóis começa a desenvolver-se através da membrana na superfície do ovo. Depois da eclosão, o cálcio presente na casca dos ovos é por vezes consumido e utilizado pelos próprios caracóis recém-nascidos. O desenvolvimento da concha prossegue ao longo do seu crescimento, essencialmente através da segregação de carbonato de cálcio a partir da sua abertura, originando as espirais por sucessivas sobreposições de novas camadas que irão reforçá-la e engrossá-la até à maturação completa, determinada pelo atingimento do tamanho e espessura máximos da concha e pela formação de um lábio engrossado em redor da sua abertura, o peristoma (2,21).

De forma geral, os caracóis alcançam a fase adulta entre 321 a 364 dias, e a sua esperança de vida pode exceder os 5 anos (1,21).

2. Principais espécies edíveis

O consumo de caracóis por humanos remonta à pré-história, evidenciado pela presença de cascas de caracol assadas em escavações arqueológicas. No entanto, o aparecimento da helicultura para uso culinário, ou seja, o cultivo de caracóis terrestres para uso alimentar, remonta à Roma antiga (2,4,28). O primeiro registo desta atividade foi apresentado por Plínio, um naturalista romano que descreveu os jardins de caracóis de Fulvius Hirpinus, por volta do ano 50 d.C.. Nestes jardins eram criadas diferentes espécies de caracóis separadas em diferentes secções (2,3). Sendo inicialmente uma prática isolada no Império Romano, a introdução de espécies edíveis alastrou-se posteriormente a outras regiões da Europa Ocidental, dos Balcãs ou das Ilhas Egeias (28). Atualmente, o seu consumo já se estendeu aos cinco continentes habitados, embora permaneça maioritariamente uma prática e referência culinária nos países pioneiros da bacia mediterrânica (3,11,27).

Em todo o mundo, os caracóis terrestres vulgarmente utilizados na alimentação humana abrangem um elevado número de espécies, divididas em dois grupos predominantes, com base nos dados de consumo deste tipo de gastrópodes e na sua importância comercial: a família *Helicidae* e a *Achatinidae*. A primeira, de menor porte e oriunda do continente europeu, e a segunda, com caracóis terrestres de maiores dimensões, nativos da África oriental, ocidental e sul, cujo tamanho varia genericamente entre os 3 e 25 centímetros (Figura 3) (5,25).



Figura 3 – Espécie de caracol gigante africano.

As espécies de caracóis terrestres mais consumidos pertencem aos géneros da família *Helicidae*, nomeadamente os géneros *Helix*, *Theba*, *Cepaea* e *Otala* (21,29). Neste grupo, as espécies com maior importância mundial são a *Helix pomatia* e a *Helix aspersa* (30). Esta última é considerada a espécie predileta para o ramo da helicicultura, porque é a mais adequada para a produção comercial, devido à sua capacidade de reprodução, ciclo de vida acelerado, sabor, versatilidade e capacidade de adaptação a diferentes regiões e ambientes (31).

As espécies *Helix aspersa* e *Helix pomatia* são bastante consumidas e apreciadas em França, sendo identificadas em todo o mundo como *escargot* (28). Embora estes dois tipos de caracol sejam habitualmente referidos com o famoso termo *escargot* e amplamente reconhecidos como uma iguaria tradicionalmente francesa, esta denominação também pode e tem sido aplicada a outras espécies, sobretudo as do género *Helix* utilizadas na gastronomia mediterrânea (2,5). Apesar da distinção de várias

espécies permanecer ainda difícil e em contínua evolução, os vários estudos taxonómicos apontam para cerca de 50 espécies deste género na zona mediterrânica (5).

A família *Achatinidae* engloba as espécies dos chamados *caracóis terrestres gigantes africanos*, como por exemplo a *Achatina achatina*, a *Archachatina marginata* ou a *Achatina fulica*, que são consumidas principalmente no seu continente de origem e muito populares em países como a Nigéria, o Gana ou a Costa do Marfim (25). Além do seu tamanho característico, estes podem alcançar os 500 gramas de peso, diferenciando-se também pelo formato cónico das suas conchas e pela diferença de sabor em relação à carne de caracol de menores dimensões (5).

2.1. Espécies da família *Helicidae*

2.1.1. *Helix aspersa*

A *Helix aspersa* (Müller, 1774) representa caracóis de dimensões intermédias, com conchas entre os 30 e 45 milímetros de diâmetro, em vários tons de castanho, mais escuros ou mais dourados, com listras amareladas e acastanhadas (Figura 4) (7,21).



Figura 4 – Espécie de caracol *Helix aspersa*.

Embora nativa das margens mediterrânicas até às costas francesas e espanholas, esta espécie foi introduzida cedo noutras regiões, nomeadamente, na Grã Bretanha, na

Europa ocidental, em algumas zonas junto ao Mediterrâneo e noutras regiões mais orientais dos Balcãs e em torno do mar Negro e do Golfo Pérsico. Atualmente, é possível encontrar esta espécie em locais ainda mais distantes como os Estados Unidos, Haiti, Canadá, África do Sul, México, Argentina ou Nova Zelândia (2,21,32).

Sendo a *Helix aspersa* facilmente adaptável a diferentes climas e condições ambientais, pode ser encontrada em bosques, jardins, terrenos arenosos ou em variados campos. A sua melhor adaptabilidade face a muitas outras espécies de caracóis, leva a que a *Helix aspersa* tenha esta grande área de distribuição a nível global (2).

“*Helix aspersa*” é muitas vezes utilizado como o termo comum atribuído às suas duas subespécies mais relevantes economicamente e mais consumidas em todo o mundo: *Helix aspersa aspersa* e *Helix aspersa maxima*.

Os exemplares da subespécie *Helix aspersa aspersa* são também denominados e vulgarmente servidos como *petit-gris*, *escargot chagriné* ou *caracol de jardim castanho*, enquanto a *Helix aspersa maxima* também se conhece por *gros-gris* ou simplesmente *caracoleta*, devido ao seu tamanho (2,5). No entanto, apesar de ainda se utilizarem estas denominações e de terem perdurado por longos períodos, a classificação taxonómica destas duas subespécies sofreu alterações recentes e o seu género foi alterado para *Cornu*, passando a *Helix aspersa aspersa* e a *Helix aspersa maxima* a classificarem-se como *Cornu aspersum aspersum* e *Cornu aspersum maximum*, respetivamente (30).

Em Portugal, a *Helix aspersa* também pode ser popularmente conhecida como *caracoleta Moura*, sendo usada gastronomicamente para a confecção da típica caracoleta assada (7).

2.1.2. *Helix pomatia*

A *Helix pomatia* (Linnaeus, 1758), também vulgarmente designada por *caracol Romano*, é nativa de grande parte do continente europeu e a sua presença estende-se por quase todo o continente, de países nórdicos como a Suécia ou a Dinamarca até aos Balcãs, e do extremo oriental dos antigos países soviéticos à França e Espanha (21,32). Como quase todas as espécies, foi introduzida em zonas distantes e pode já ser encontrada por exemplo no Uruguai, nos Estados Unidos, no norte de África ou na Argentina (21). Os seus habitats incluem vales, jardins, montanhas arborizadas e vinhedos (2,21).

As conchas, cujo diâmetro oscila aproximadamente entre os 32 e 50 milímetros, apresentam uma coloração acastanhada a bege, usualmente complementada com bandas mais escuras, de intensidade variada, e que podem ser comparadas à coloração da canela (Figura 5) (2,20).



Figura 5 – Espécie de caracol *Helix pomatia*.

Amplamente utilizada como alimento, a *Helix pomatia* é popularmente reconhecida e servida como *escargot de Bourgogne* (Figura 6), a sua denominação legal de venda, representando uma receita muito valorizada e célebre na gastronomia francesa. Corresponde também ao termo *Weinbergschnecke* na Alemanha (2,5).



Figura 6 – *Escargot de Bourgogne* tipicamente servido na gastronomia francesa.

2.1.3. *Otala lactea*

A *Otala lactea* (Müller, 1774) é uma espécie nativa do sul da península Ibérica e norte de África, com grande incidência em Marrocos, sendo encontrada em estepes, charnecas rochosas, planícies costeiras e terrenos agrícolas (7). Hoje em dia, também é encontrada no norte de África e em países como a Argentina, os Estados Unidos ou a Austrália (32,33).

Também podendo ser designada de *Helix lactea* ou *caracol espanhol*, insere-se no grupo dos designados *Milk snails*. Em Portugal, é também conhecida como *caracoleta riscada*, *caracol riscado* ou *caracol Mitra*, sendo gastronomicamente muito apreciada no nosso país, assim como na Espanha, Itália, e França (7,21).

A sua concha branca/amarelada, que pode em alguns casos também adquirir tons acastanhados, possui tipicamente riscas em espirais pronunciadas, avermelhadas ou de um castanho carregado (7,21,33). O seu diâmetro e altura estão compreendidos entre os 21 e 39 milímetros e entre os 16 a 25 milímetros, aproximadamente (Figura 5) (7,20).

Alguns dos aspetos mais discriminatórios desta espécie em relação às restantes, são a abertura mais alargada da sua casca (à boca-de-sino), o formato ligeiramente mais achatado da sua concha e o rebordo mais grosso e característico que se forma junto à referida abertura, no lábio externo (Figura 7) (33,34).



Figura 7 – Espécie de caracol *Otala lactea*.

2.1.4. *Theba pisana*

A espécie *Theba pisana* (Müller, 1774), da família *Helicidae*, também conhecida como *caracol de jardim branco*, *caracol branco* ou *caracol do mediterrâneo*, é uma espécie nativa da região mediterrânica, concretamente da Sicília (2,21). Esta espécie representa a principal variedade de caracol consumida em Portugal (7,8).

A sua concha apresenta genericamente cerca de 18 milímetros de largura e 13 milímetros de altura, embora possa variar entre 10 e 30 milímetros de diâmetro entre diferentes indivíduos. De tonalidade branca, amarelada ou castanho claro, a sua casca pode apresentar padrões uniformes ou traços castanhos ou acizentados sob a forma de diferentes espirais, riscas ou pontos (Figura 8) (7,20).



Figura 8 – Espécie de caracol *Theba pisana*.

Apesar do seu predomínio no continente europeu (Figura 9), encontra-se já distribuída pela Ásia, África, Oceania e América do Norte e Central, preferencialmente em climas quentes e zonas mais arenosas e costeiras (20,27,32,35).

A capacidade de agregação destes caracóis e a sua propensão para desfolhar e consumir árvores de pequeno porte, plantas ornamentais e de jardins e quase todo o tipo de gramíneas, incluindo cereais e culturas agrícolas, tornam-na numa espécie invasiva que pode representar grandes inconvenientes ou perdas de colheitas, com prejuízos económicos acentuados (20).



Figura 9 – Distribuição da *Theba pisana* por países europeus, adaptado de *Fauna Europaea* (32).

No panorama europeu, encontram-se ainda muitas outras espécies das zonas mediterrânicas e adjacentes além das mencionadas, sobretudo consumidas em alguns países da Europa, como a Grécia, Itália, França ou Espanha, e que incluem a *Eobania vermiculata*, *Otala punctata*, *Cepaea nemoralis*, *Cepaea hortensis*, *Helix lucorum*, *Helix aperta* ou a *Helix adanensis* (2,5).

2.2. Espécies da família Achatinidae

2.2.1. *Achatina fulica*

A *Achatina fulica* (Bowdich, 1822), também reconhecida como *caracol de jardim* ou *caracol gigante africano* e identificada como uma das maiores pragas agrícolas entre os gastrópodes terrestres, é uma das espécies incluídas na categoria de caracóis gigantes africanos, podendo a sua concha ultrapassar os 20 centímetros de comprimento e desenvolver um diâmetro máximo de 12 centímetros (25). Esta espécie apresenta um peso médio de cerca de 250 gramas no estado adulto e é bastante consumida em diversos países africanos (2). As suas conchas variam em tons predominantemente castanhos, contendo diversas bandas acentuadamente mais escuras em volta das espirais. A origem da *Achatina fulica* remete-se à região costeira subsaariana oeste, no Quênia e na Tanzânia, tendo-se depois alastrado a zonas contíguas como o norte de Moçambique ou

o sul da Somália e Etiópia. Mais tarde, também foi introduzida propositadamente ou involuntariamente no continente asiático e americano, em países como por exemplo a Índia, o Japão, os Estados Unidos ou o Brasil (25). Hoje em dia, já pode ser encontrada em todos os continentes, excetuando a Antártida (36).

2.3. Distribuição das várias espécies em Portugal

Em Portugal, as principais espécies consumidas pertencem à família *Helicidae*, nomeadamente a *Theba pisana*, a *Helix aspersa*, a *Otala lactea* e a *Cepaea nemoralis*, que fazem parte dos moluscos terrestres naturalmente presentes em território nacional.

A espécie *Helix aspersa* prefere zonas húmidas e solos cultivados e encontra-se distribuída por todo o país. A *Theba pisana* distribui-se ao longo de toda a costa portuguesa (Figura 10), privilegiando locais secos e expostos ao ar. Encontra-se ainda no arquipélago dos Açores e no arquipélago da Madeira, principalmente na ilha de Porto Santo (1,37).

A presença de *Otala lactea* está mais associada ao território central e do sul, embora também exista no arquipélago da Madeira e nas ilhas de São Miguel e Santa Maria (37). A espécie *Cepaea nemoralis* distribui-se preferencialmente nas regiões do norte e centro (9,37).

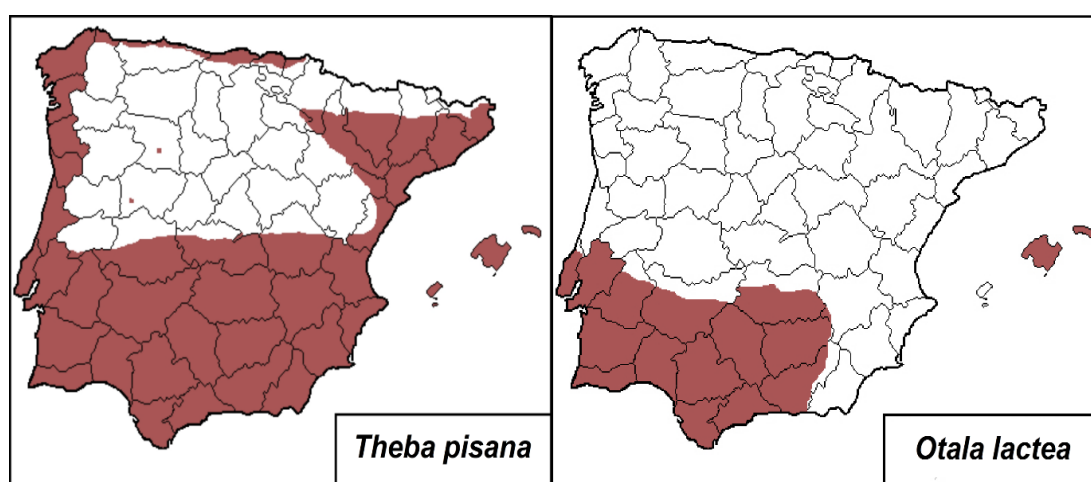


Figura 10 – Distribuição da *Theba pisana* e *Otala lactea* na Península Ibérica, adaptado de Malacowiki (37).

Face ao elevado consumo de caracóis em Portugal, a principal espécie consumida, a *Theba Pisana*, é maioritariamente importada de Marrocos (7).

Conchas de *Theba pisana* do final do período Islâmico, com perfurações idênticas às causadas por alfinetes, são provas que sugerem ou evidenciam que já nessa altura se consumia esta espécie e que se extraía o animal da sua casca para consumo (8). Nos dias de hoje, o consumo da *Theba pisana* como petisco está convencionalmente mais ligado à gastronomia no centro e sul do país, representando a variedade de caracol usualmente servida em restaurantes, cafés e cervejarias nacionais, e sendo também vendida pronta a consumir em baldes em algumas das grandes superfícies comerciais, bem como em estabelecimentos especializados na comercialização de caracóis vivos e cozinhados (7,8). A apanha manual dos caracóis no seu habitat natural para consumo próprio também é uma prática comum em Portugal.

3. Consumo mundial e nacional

Em Portugal, o consumo de caracol está tradicionalmente associado à ingestão de espécies de pequeno porte, nos petiscos dos períodos de Verão. Os caracóis comprados ou os da apanha doméstica são cozinhados com variados temperos, nomeadamente, sal, caldos (preparados de caldo de carnes ou legumes), ervas aromáticas (orégãos), especiarias, alho e/ou azeite.

O setor de helicultura em Portugal tem vindo a crescer, mas, além de ser esmagadoramente direcionado para a espécie *Helix aspersa* (a vulgar caracoleta), ainda não consegue abastecer e sustentar de forma autónoma o mercado interno, sobrevivendo também muito à base da importação. Duas grandes cooperativas reúnem alguns dos principais produtores do país: a *Helixcoop* e a *Widehelix* (38,39).

A *Helixcoop*, criada em 2011, está sediada na Lourinhã e foi a primeira cooperativa agrícola de helicultores portugueses, reunindo atualmente 50 produtores de norte a sul do país (38).

A *Widehelix*, sediada em Vila Nova de Famalicão, também foi criada em 2011 e conta atualmente com 14 helicultores associados da região norte. Embora igualmente focada na comercialização de *Helix aspersa*, o seu negócio está centrado na distribuição externa, nomeadamente para o mercado francês, espanhol, britânico, canadiano e norte-americano (39).

Deste modo, o abastecimento dos caracóis de menor porte e mais consumidos em Portugal baseia-se na importação por parte dos distribuidores nacionais, nomeadamente no que diz respeito às espécies *Theba pisana* e *Otala lactea*. O maior importador, distribuidor e comerciante de caracóis do país e líder neste setor é o *Grupo Francisconde* (40). Atendendo à escassez destas espécies de caracóis em Portugal, este grupo expande-se internacionalmente e aposta na importação de caracóis de Marrocos e Espanha, predominando a importação de Marrocos. Alguns dos atributos vantajosos do caracol marroquino face ao português, além da disponibilidade em ambiente natural e selvagem, são a sua elevada qualidade, sendo mais carnudo e apelativo, e o facto de serem viáveis numa fase do ano mais prematura (40). Outros produtores referem ainda o facto de a mão-de-obra ser mais barata em Marrocos e de aí não ser necessária a criação de cativeiros de produção (41).

Anualmente, só através do *Grupo Francisconde*, são distribuídas duas mil toneladas de caracol por todo o país, sendo este também exportado para Espanha, França, Itália, Bélgica e Luxemburgo (40).

Em 2014, e de acordo com informações veiculadas no primeiro encontro nacional de helicicultores, existiam cerca de meia centena de produtores nacionais, embora esse número já deva ter aumentado, já que a helicicultura constitui um negócio em crescendo (41,42).

Na última década, também se verificou um aumento da tendência de consumo de caracóis pelo mundo, quer dos desenvolvidos em cativeiro e comercializados, quer dos exemplares encontrados e recolhidos diretamente da natureza (30).

Em 2019, as análises, conclusões, tendências e prospeções do mercado global de caracóis terrestres apresentados num relatório da *IndexBox* (43), atribuem a Portugal, em 2016, um dos maiores consumos de caracóis *per capita* (155 kg por ano), apenas superado pela Espanha, Bósnia-Herzegovina e Marrocos (Figura 11). Um valor muito acima da média global, que se fixava em 5,9 g por ano (43).

Entre 2006 e 2017, Portugal é também referido como o segundo país com maior taxa de crescimento anual desse mesmo consumo *per capita* (+ 6,4%), atrás de Marrocos (+ 21,6%) e antes da França (+ 5,5%), sendo esperado que o crescimento se mantenha (43).

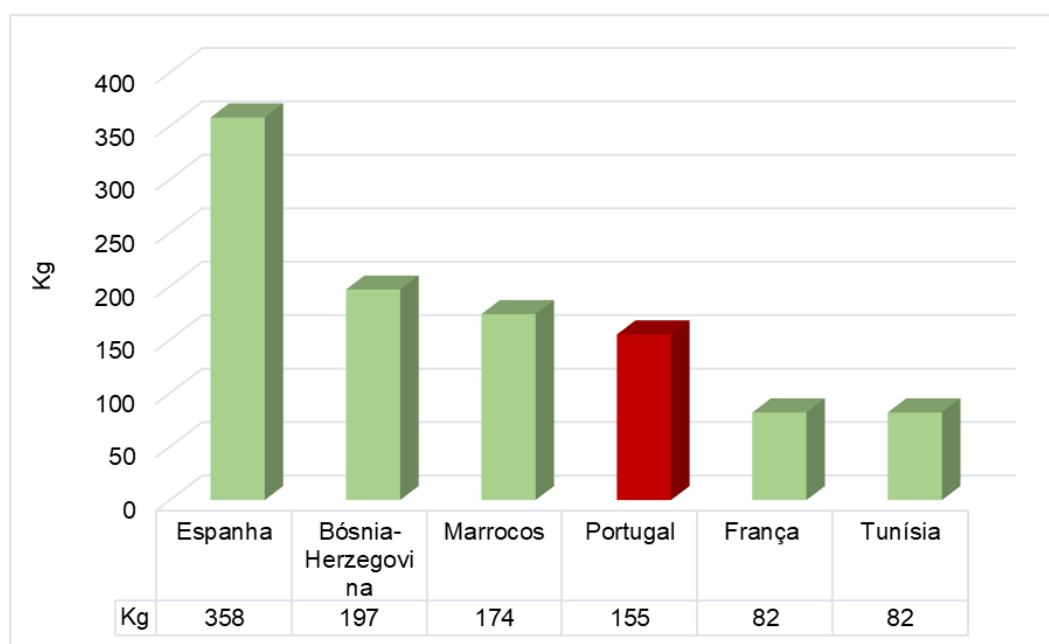


Figura 11 – Países com maior consumo de caracol *per capita*, em kg, em 2016 (43).

Ainda de acordo com o mesmo relatório, os maiores consumos absolutos de caracol do mundo pertencem, em 2016, à Espanha (16,5 mil toneladas), Marrocos (6 mil toneladas), França (5,3 mil toneladas) e Itália (2,1 mil toneladas), constituindo estes, por si só, 69% do consumo total mundial, o que corresponderá a um valor de consumo global de cerca de 43,3 mil toneladas.

De acordo com outras estimativas, os valores podem ser superiores. Segundo Allen M.J., em Portugal, só o consumo da espécie de caracóis *Theba pisana* atinge cerca de 4 mil toneladas anualmente (10).

Os índices de produção, exportação e importação dos caracóis são também um indicador muito importante para a avaliação do consumo de determinada população e para a projeção de tendências, bem como para determinar a importância deste produto e do respetivo setor nas economias locais.

Segundo dados da FAOSTAT (*The Food and Agriculture Organization Statistics*) disponibilizados pelo UNdata (44), a produção mundial de caracóis terrestres para consumo humano em 2017 foi de 18.331 toneladas, e tem sido verificada uma tendência global de crescimento ao longo deste milénio (44). Destes valores, associam-se ao norte de África 17.505 das toneladas produzidas, sendo Marrocos o principal e mais destacado produtor, com 16.520 toneladas produzidas em 2017 (44).

Ainda de acordo com dados disponibilizados pelo *UNdata*, relativamente aos índices de importação de caracóis terrestres edíveis, em 2017, este valor atingiu em Portugal cerca de 2000 ton (1.880.173 kg), que traduziram-se em trocas comerciais no valor de 2.631.416 dólares americanos. O maior registo recente de importação de caracóis em Portugal deu-se em 2015, com 2.079.915 kg. A importação nacional de caracóis teve um aumento drástico entre a última e a presente década, mantendo-se sempre acima das mil toneladas desde 2010 (44).

Atualmente, o fluxo de importação de caracóis em Portugal acentua-se bastante face aos baixos valores de exportação (Figura 12). A exportação de caracóis em Portugal, tendo atingido 113.119 kg em 2017, apresentou nesse ano um aumento radical em relação aos 8 anos anteriores, cujo maior registo de exportação tinha sido de 34.411 kg, em 2016, e o mínimo de 10.738 kg, em 2009 (44). Porém, no final da década de 80, nomeadamente em 1989, os valores de exportação alcançavam os 323,245 kg, ultrapassando, inclusivamente, largamente os valores de importação, que nessa época eram bastante mais reduzidos (36.691 kg) (44).

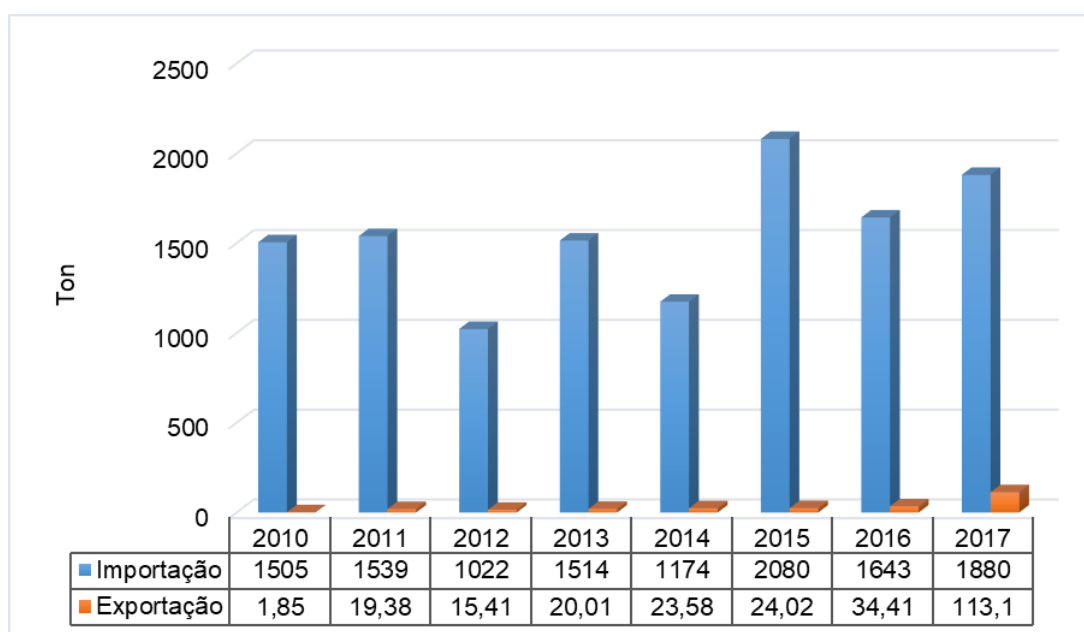


Figura 12 – Registo de importações e exportações de caracóis em Portugal, de 2010 a 2017 (44).

Os países importadores de caracóis provenientes de Portugal incluem por exemplo a Espanha, França, Alemanha, Suíça, Bélgica, Reino Unido, Canadá, Estados Unidos da América ou até vários países de língua oficial portuguesa (45). Em sentido oposto, dos países que mais exportaram para o nosso país, em 2017, destaca-se Marrocos, com 2.475.200 kg, logo à frente da Espanha, com 1.879.984 kg (45).

No conjunto dos 28 estados membros da união europeia, em 2017, foram importados 14.130.499 kg de caracóis terrestres para consumo (44).

Outras plataformas disponibilizam dados relativos às importações e exportações neste mercado, embora existam discrepâncias.

A *Tridge – Global Trade Platform* (46), em resultados relativos a 2016, indica também Marrocos como o maior exportador mundial de caracóis terrestres edíveis, com uma quantidade de mercadoria exportada de 11,46 mil toneladas, seguindo-se a França (2,37 mil toneladas), e depois a Espanha (1,84 mil toneladas), apesar de a exportação da França se mostrar em tendência crescente ao longo dos 3 anos anteriores, enquanto na situação de Marrocos se verifica um ligeiro decréscimo (46).

No entanto, em termos de movimentações financeiras implicadas, as listagens hierárquicas sofrem diversas alterações, revelando preços das unidades de exportação bastante mais elevados na maioria dos países europeus em relação a grandes produtores como Marrocos e a Espanha (46).

Os países com maior taxa de crescimento de matéria exportada num ano foram, por ordem decrescente, a França, a Tunísia, a Bósnia-Herzegovina, os Estados Unidos da América e a Sérvia.

Os maiores exportadores asiáticos, segundo a mesma fonte, foram a Indonésia (1,25 mil toneladas) e a Índia (1,01 mil toneladas). No continente americano, lideraram o Canadá (250,28 mil toneladas) e os Estados Unidos (152,86 mil toneladas) (46).

Nesta listagem dos 20 principais elementos exportadores, surgem também outros países do sul e leste europeu (Bósnia-Herzegovina, Turquia, Hungria, Lituânia, República Checa, Bélgica, Grécia, Polónia, Sérvia, Reino Unido e Bulgária), outro grande produtor africano (Tunísia), e o Canadá e os Estados Unidos (46). Nenhuma região da Oceânia nem da América do Sul aparecem representadas.

Nos dados de importação do ano de 2016 disponibilizados pela *Tridge – Global Trade Platform* (46), a Espanha evidencia-se (10,32 mil toneladas), seguindo-se a França (4,62

mil toneladas). Portugal surge como o terceiro maior importador de caracóis terrestres comestíveis, com 3,4 mil toneladas, acima da Roménia, Bósnia-Herzegovina e Itália (Figura 13).

Os países com maior taxa de crescimento de matéria importada num ano foram, respetivamente, a Irlanda, o Canadá, a Roménia, a Lituânia e a Hungria, verificando-se cada vez mais afluência dos países do leste europeu ao consumo de caracóis, como já é bastante mais tradicional na zona ocidental mediterrânica (46).

Nos principais importadores asiáticos encontram-se o Hong Kong (968,68 toneladas) e a China (526,09 toneladas), e na América, mais uma vez os Estados Unidos (379,15 toneladas) e o Canadá (231,91 toneladas) (46).

Surgem ainda nesta listagem o Japão, o Vietname e a Malásia, bem como países do sul e leste da Europa (Hungria, Bósnia, Bélgica, Grécia, República Checa, Roménia, Itália, Lituânia), não se verificando nenhum país africano, da Oceânia e da América do Sul no que concerne a este parâmetro (46).

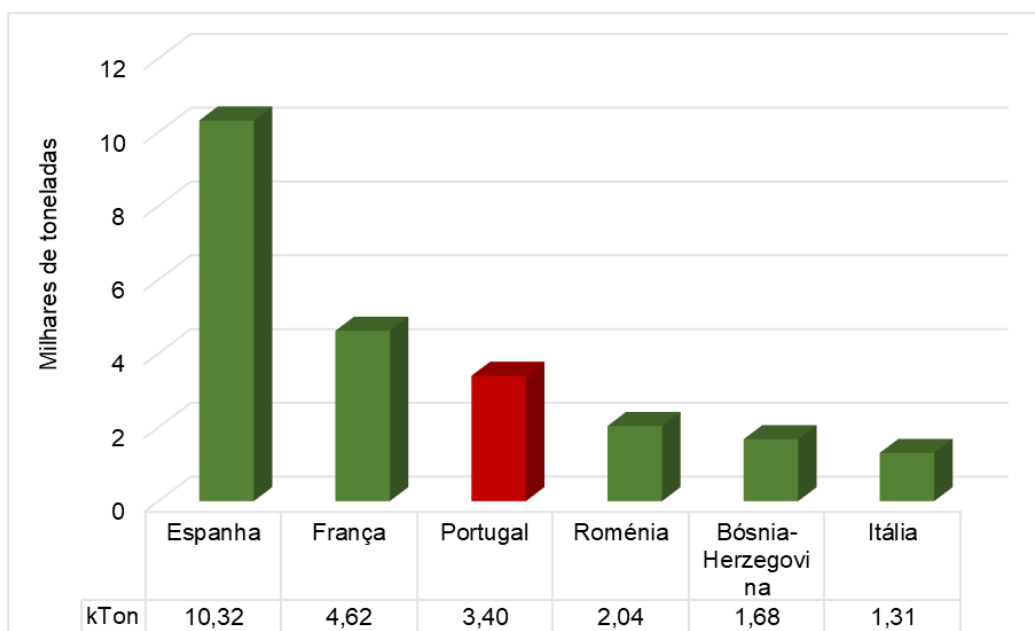


Figura 13 – Maiores importadores de caracóis, por milhares de toneladas, em 2016 (46).

No quadro de movimentações e trocas globais destes moluscos em 2016, estabelecem-se algumas rotas e relações comerciais com importante expressão económica (46), tal como ilustrado na Figura 14.

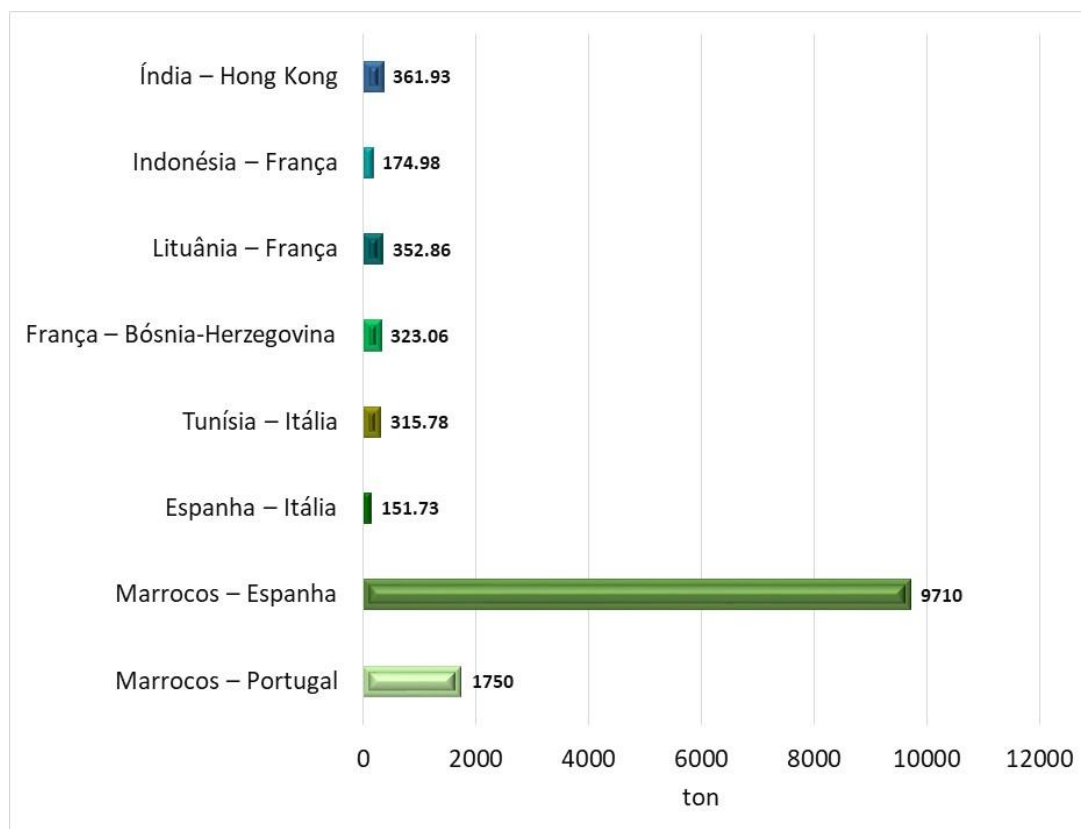


Figura 14 – Fluxo das trocas comerciais de caracóis, em toneladas, em 2016 (46).

As informações recolhidas demonstram que, sobretudo na Oceânia, na América do Sul, nos países escandinavos e Rússia, mas também ainda em muitos países africanos, a utilização e a familiaridade da carne de caracol como um bem alimentar têm ainda uma expressão bastante reduzida em relação a outras zonas do globo, sendo que todas as referências confirmam que o continente europeu continua a ser o maior mercado de caracóis terrestres (43,45,46).

O consumo na Ásia pode aumentar por influência da popularidade crescente deste símbolo da cozinha europeia, apesar de não ser esperado um acréscimo muito acentuado nos próximos anos (43). No entanto, através desse indicador, do desenvolvimento de novas tecnologias de conservação e aparecimento de novos produtos, e da progressiva

consciencialização para uma população com preocupações ecológicas e de estilos de vida mais saudáveis, estima-se que a procura destes moluscos aumente na América do Norte (embora já exista um considerável mercado de *escargot* no Estados Unidos (12)) e no sudoeste asiático, e que o consumo total mundial possa alcançar as 50 mil toneladas em 2025 (43).

4. Valor nutricional

A carne de caracol é descrita como um excelente recurso nutricional, nomeadamente pela presença de proteínas completas e ácidos gordos insaturados essenciais na sua composição. De forma geral, também apresenta um baixo teor calórico (baixo teor em hidratos de carbono e lípidos), e é uma boa fonte de minerais como o cálcio, magnésio, cobre, ferro, potássio, selénio e o zinco, e de vitaminas A, E e do complexo B, sendo uma alternativa ideal para dietas de elevado valor proteico e baixo teor de gordura (Figura 15) (14,30). Da sua composição também fazem parte o cobalto, molibdénio, sódio, manganês, iodo e outros minerais (16,28,47).

Alguns estudos apontam para teores de proteínas comparáveis aos da carne de bovino, de aves e peixes, mas com menor teor lipídico que a maioria dos produtos cárneos (28,30). O peixe será o que mais se assemelha às propriedades da carne de caracol, também apresentando baixo teor lipídico e calórico, ainda que com um teor proteico ligeiramente superior ao do caracol (28). Ainda assim, a carne de caracol apresenta um valor energético mais baixo que a carne e peixe magros (48).

Nesta perspetiva, vários autores atribuem à carne de caracol uma alternativa vantajosa a outros tipos de carne (13,14), considerando-a um alimento cuja composição nutricional satisfaz uma dieta equilibrada e que responde às necessidades da generalidade da população adulta (49).

Çağıltay *et al.* (14) concluíram que a carne de *Helix aspersa* apresenta uma composição semelhante à do pescado, no que se refere às proteínas, aminoácidos, vitaminas, minerais e ácidos gordos (14).

Em espécies gigantes africanas (*Archachatina marginata* e *Achatina achatina*), o teor proteico mostra-se também similar a outras carnes, como a carne de pato, de cabra e de aves, e foi igualmente demonstrado o baixo teor lipídico em comparação a outros alimentos proteicos de origem animal (50).

Zymantiene *et al.* (13) compararam o valor nutricional de carne de caracol à carne de porco lituano, concluindo que a carne de caracol apresenta até 12% a mais de água, até 15% a mais de minerais, e quantidades de hidroxiprolina 77% superiores. Os nutrientes em menor quantidades do que os encontrados em carne de porco foram os lípidos (até 78%), as proteínas (até 38%) e o aminoácido triptofano (até 43%) (13).

Segundo Sando *et al.* (16), a carne de caracol apresenta um conteúdo mineral (1,4% - 3,6%) e de água (75 - 80%) ligeiramente superior aos do peixe, carne bovina e de aves, e um teor proteico (16,5% - 18,3%) ligeiramente inferior (16). É também mencionado um teor lipídico (0,4% - 1,23%) menor que no peixe (2,2% - 22,3%), bovinos (4,0% - 25,0%) e aves (4,0% - 11,5%) (16). O teor calórico apontado às espécies do género *Helix* (83 kcal/100 g) é inferior ao de espécies de peixes como a carpa (121 kcal/100 g) ou a truta (117 kcal/100 g), bem como de carne de aves (129 kcal/100 g) e carne suína (278 kcal/100 g) (16).

Na fração mineral, o nutriente recorrentemente encontrado em maiores quantidades nos caracóis terrestres é o cálcio (14,30,50–52), constituindo este parâmetro outra vantagem em relação às carnes tradicionais (30). O cálcio presente em carne de caracol pode ser duas a vinte vezes superior ao existente em peixe, carne bovina e de aves (5). Outro estudo citado por Sando *et al.* (2012) aponta que o cálcio disponível em carne de caracol é dez vezes maior que noutros tipos de carne, e comparável a certos tipos de queijos gordos (16). Já o teor de zinco é ligeiramente inferior ao de outros tipos de carne, assim como o fósforo (apontado como cerca de duas vezes mais baixo que em bovinos, aves e peixe) (5). O Manganês, zinco e ferro são descritos com teores abaixo dos 2 mg/100 g em *Helix pomatia* (51). O caracol *Helix aspersa* apresenta um conteúdo mineral comparável ao da espécie de peixe *S. sarda* (14). Na espécie gigante africana *Archachatina marginata* podem ser encontrados mais minerais do que em carnes bovinas, suínas, de aves, caprinas e ovinas (50). Babalola & Akinsoyinu (50) concluem que a ingestão de 100 g desta espécie satisfaz as necessidades diárias de cobre (50). Drozd *et al.* (30) reportaram teores de selénio em *Helix aspersa* e *Helix pomatia* superiores às encontradas em carne de porco, cavalo e vaca da Polónia, considerando-os uma boa fonte neste nutriente (30).

No conteúdo vitamínico, Çağıltay *et al.* (14) quantificaram, em ordem decrescente de concentração, as vitaminas A, B3, E, B6, B1 e B2 em *Helix aspersa*, e concluem que 100 g da carne desse caracol seriam suficientes para alcançar as doses diárias

recomendáveis (14). Sando *et al.* (5) referem-se à carne de caracol como uma fonte relevante de vitamina C e B12.

Outro fator relevante é que, como o teor de ácidos gordos ómega 3 (n-3) e ómega 6 (n-6) é baixo nas carnes tradicionais e mais elevado nestes moluscos gastrópodes, a carne de caracol tem um papel positivo na esperança média de vida da população, associado a uma diminuição dos fatores de risco das doenças crónicas como a obesidade e as doenças cardiovasculares

Vários estudos nutricionais, relativos à caracterização do teor de lípidos na carne de caracol, indicam a predominância de ácidos gordos insaturados com potencial benéfico para a saúde, ao contrário do que acontece nas carnes tradicionais (14,51,53). Çağıltay *et al.* (14) obtiveram 55% de ácidos gordos insaturados na espécie *Helix aspersa*, dos quais 21% correspondem a ácidos gordos monoinsaturados e 34% a ácidos gordos polinsaturados, em oposição aos 29% de ácidos gordos saturados encontrados (14). Em *Helix pomatia* foram registados 46% de ácidos gordos insaturados (dos quais, 20% são ácidos gordos monoinsaturados e 26% ácidos gordos polinsaturados) e apenas 38% ácidos gordos saturados (51). Em *Helix pomatia*, *Helix aspersa aspersa* ou *Helix aspersa maxima*, foram mostrados resultados coincidentes em relação aos ácidos gordos percentualmente mais abundantes nestas três espécies, cruas e cozinhadas (53). Entre os diversos ácidos gordos saturados quantificados, destacaram-se o ácido esteárico (C 18:0), o ácido palmítico (C 16:0) e o ácido beénico (C 22:0) (53). No perfil de insaturados, destaca-se a presença de ácido oleico (C 18:1, n-9) nos monoinsaturados e do ácido linoleico (C 18:2, n-6) nos polinsaturados (53). O ácido linoleico e α -linolénico (C 18:3, n-3), pelo facto de serem ácidos gordos essenciais e substratos na síntese da família de outros ácidos gordos n-6 e da família de ácidos gordos polinsaturados n-3, respetivamente, ganham extrema importância nas dietas alimentares, estando ambos presentes nos caracóis (53). Os ácidos araquidónico (C 20:4, n-6) e eicosapentaenóico (C 20:5, n-3) são outros exemplos de ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa presentes e mais abundantes em caracóis (14,16).

O colesterol também é inferior ao das carnes tradicionais (3,16). O perfil de ácidos gordos insaturados para caracóis é apontado como similar ao do pescado como o salmão e o atum (16).

O baixo teor de colesterol e a relação entre gorduras saturadas e insaturadas, assim como a riqueza em ácidos gordos insaturados e essenciais, são indicativos das funções profiláticas destes compostos na saúde (53).

Também a fração proteica associada à carne de caracol é considerada uma das suas melhores propriedades. Estudos de caracterização proteica em carnes de caracol, apontam este alimento como uma fonte proteica completa e de elevado valor biológico (16). Çağıltay *et al.* (14) quantificaram também os aminoácidos presentes nos caracóis, num total de 17 dos 20 aminoácidos. No caso da *Helix aspersa* foram quantificados 8 aminoácidos essenciais: lisina, metionina, treonina, isoleucina, leucina, fenilalanina, valina e histidina (14) - Destes, o mais representativo é a lisina, com 721 mg/100 g. Já Olgunoğlu & Olgunoğlu (2009) também quantificaram os mesmos aminoácidos (à excepção da metionina) na constituição de *Helix lucorum* (14). Ainda segundo Çağıltay *et al.* (14), com base em valores retirados da literatura (UN/WHO/FAO) e nos seus resultados para a espécie *Helix aspersa*, determinam que cerca de 100 g do caracol que analisaram satisfaz em 30% as recomendações diárias de aminoácidos essenciais para um adulto de 75 kg (14,54).

O contributo dos caracóis particularmente na ingestão em triptofano, lisina e metionina, que estão ausentes nas dietas pobres em produtos de origem animal, pode ser um bom contributo. A nível de histidina, ácido glutâmico, ácido aspártico e treonina, a carne de caracol é apontada como uma melhor alternativa ao peixe e à carne bovina e de aves (16). A Figura 15 apresenta os vários nutrientes da carne de caracol.

As tabelas nutricionais para a composição da carne de caracol vão de encontro às principais conclusões dos estudos nutricionais disponíveis (Tabela 1). As bases de dados de entidades como o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA, *United States Department of Agriculture*) (55) apresentam as propriedades nutricionais deste alimento, nomeadamente de “*caracóis escargot*”, listado num catálogo de produtos associados aos vários fabricantes (56) de *escargots* de maiores dimensões enlatados e prontos a consumir, que provavelmente se referem à espécie *Helix aspersa* ou *Helix pomatia*.

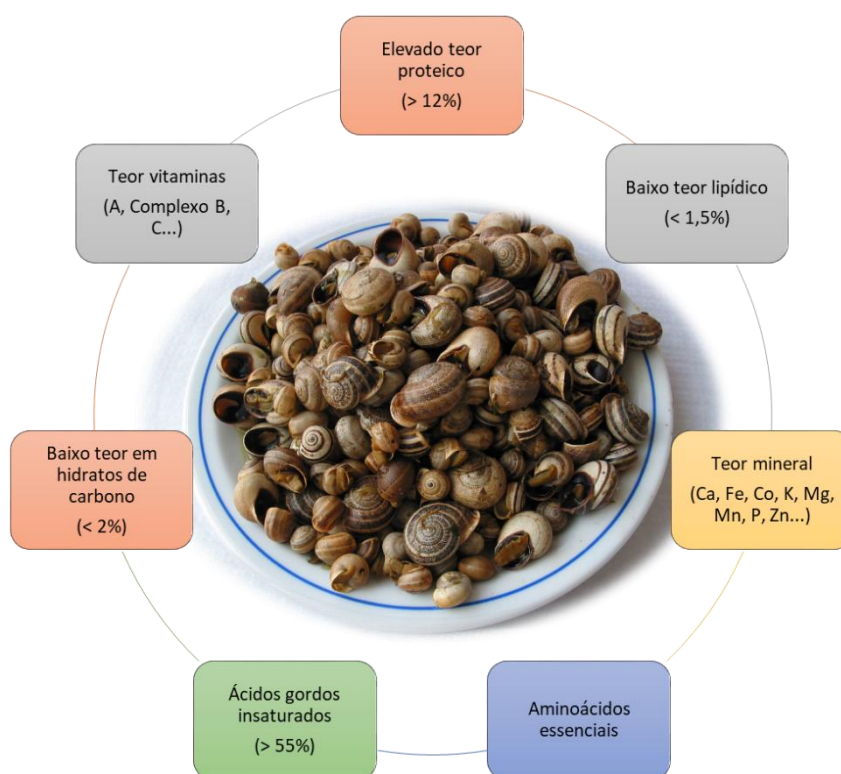


Figura 15 – Principais propriedades nutricionais apontadas à carne de caracol.

A ANSES (*Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail*) compila os dados referentes aos parâmetros calculados pela agência e de outras entidades externas, incluindo as informações dos “moluscos (caracóis) crus” apresentados pela USDA (55), mas cujo grupo alimentar em que estão inseridos é apresentado como “produtos de pesca e marisco”. Nas tabelas nutricionais de valores médios da *ANSES-CIQUAL* (57) também são apresentados os caracóis cozinhados sem adição de gordura e caracóis cozinhados em molho de salsa, na secção relativa a mariscos ou produtos de pesca. De forma a assegurar com certeza a consulta de dados referentes a espécies terrestres de consumo, também pode ser consultada a tabela para “*Escargots*, caracóis terrestres, cozinhados” (embora também se inclua na secção de marisco) que é disponibilizada pelo portal da *Nutrition table* (58), desenvolvida através de pesquisa e dos dados fornecidos por vários produtores alimentares.

Tabela 1 – Dados de diferentes tabelas nutricionais referentes a caracóis.

	Caracol cru (57)	Caracol cozinhado sem gordura (57)	Caracol cozinhado com molho de salsa (57)	Escargot enlatado (55)	Escargot cozinhado (58)
Valor calórico (kcal/ 100g)	77,9	80,0	277	85,0	80,0
Água (%)	79,1	78,8	57,2	—	80,4
Proteína (%)	16,1	16,6	12,9	17,0	16,0
Hidratos de carbono (%)	1,29	0,230	2,26	1,69	1,60
Açúcares (%)	0,00	< 0,30	1,02	0,00	0,00
Gordura (%)	0,920	1,40	23,7	0,850	1,00
Fibras (%)	0,00	0,00	1,69	1,70	0,00
Cinzas (%)	2,59	1,84	3,19	—	—
Cálcio (mg/ 100g)	90,0	—	—	169	150
Cobre (mg/ 100g)	2,80	—	2,30	—	—
Ferro (mg/ 100g)	2,60	—	2,50	3,05	3,00
Iodo (µg/ 100g)	6,00	—	< 20,0	—	—
Magnésio (mg/ 100g)	48,3	—	35,0	—	240
Manganês (mg/ 100g)	1,20	—	0,34	—	—
Fósforo (mg/ 100g)	157	—	150	—	—
Potássio (mg/ 100g)	35,0	—	89,0	—	—
Selénio (µg/ 100g)	—	—	< 50	—	—
Sódio (mg/ 100g)	138	109	665	254	—
Zinco (mg/ 100g)	1,17	—	1,20	—	—
AGS (g/ 100g)	0,190	0,310	14,8	—	—
AGMI (g/ 100g)	0,130	0,240	5,63	—	—
AGPI (g/ 100g)	0,260	0,750	0,850	—	—
Colesterol (µg /100g)	57,5	—	225	227	—
Retinol (µg /100g)	30,0	—	131	51	30
Vit. D (µg /100g)	< 0,50	—	< 0,50	—	—
Vit. E (mg /100g)	5,00	—	—	—	—
Vit. K1 (µg /100g)	0,100	—	10,4	—	—
Vit. C (mg /100g)	15,0	—	—	0,00	12,0
Vit. B1 (µg /100g)	20,0	—	65,0	—	—
Vit. B2 (µg /100g)	120	—	40,0	—	—
Vit. B3 (mg /100g)	1,70	—	0,200	—	—
Vit. B5 (µg /100g)	—	—	250	—	—
Vit. B6 (µg /100g)	28,0	—	69,0	—	—
Vit. B9 (µg /100g)	8,5	—	14,1	—	—
Vit. B11 (µg /100g)	—	—	—	—	4,00
Vit. B12 (µg /100g)	0,920	—	0,260	—	—

*AGS – Ácidos gordos saturados

*AGMI – Ácidos gordos monoinsaturados

*AGPI – Ácidos gordos polinsaturados

As propriedades nutricionais inerentes ao consumo de caracóis terrestres sugerem a sua contribuição na prevenção ou combate de diversos problemas de saúde, nomeadamente: doenças vasculares (ataques cardíacos, hipertensão, arteriosclerose, enfarte (50), distúrbios inflamatórios (51,53), problemas de coagulação sanguínea e enfraquecimento ósseo (50), anemia (50,51), prevenção do cancro (16,28), subdesenvolvimento ósseo e cognitivo (51,52), deficiências nutricionais, fraqueza muscular, alterações nervosas, reumatismo, osteoporose ou cegueira noturna (52).

Apesar de toda a informação relativa às diferentes espécies de caracóis comestíveis, devido à diversidade natural de elementos existente em diferentes ambientes e dada a elevada capacidade de bioacumulação de elementos por parte dos caracóis (quer pelo contacto direto, quer através da alimentação), o meio em que estes se encontram inseridos tem uma grande influência na sua composição nutricional, nomeadamente nos teores de minerais presentes na sua carne. Além da variabilidade natural existente entre as diferentes espécies, o seu conteúdo mineral terá uma forte relação com a mudança não só da localização e da alimentação, como até com a alternância de estação do ano ou de ciclos biológicos de cada indivíduo (16,48,51). A variabilidade genética e de fatores fisiológicos entre espécies e indivíduos influenciam a constituição bioquímica dos seus tecidos e, consequentemente, a sua composição nutricional (48).

Também a sua suscetibilidade à presença de substâncias tóxicas como metais pesados e pesticidas, bem como de microrganismos associados à ocorrência de infeções ou intoxicações alimentares, terá um papel importante, não podendo ser desprezada na seleção desta carne como alimento (30).

5. Toxicidade

5.1. Aspetos gerais

A capacidade dos caracóis acumularem resíduos e determinados contaminantes, nomeadamente dos solos, já está bem documentada, considerando-se uma das potenciais preocupações relativas ao consumo de carne de caracol (59).

Atividades antropogénicas como por exemplo a produção e utilização de compostos metálicos ou combustíveis fósseis, são as principais responsáveis pela contaminação dos solos com resíduos tóxicos, os quais podem gerar efeitos nefastos ao propagarem-se a toda a rede trófica sujeita aos ambientes afetados (59). Estas emissões afetarão os

ecossistemas terrestres e aquáticos, que por sua vez irão condicionar toda a relação de cadeias alimentares e difundir-se por todos os seres vivos nelas inseridas, incluindo o ser humano, num processo que integra não só a bioacumulação individual destes elementos em cada organismo, mas também a sua biomagnificação entre espécies (60). Como os caracóis são organismos invertebrados, consumidores primários de substratos poluentes, e estão em contato direto com potenciais fontes de elementos tóxicos, tornam-se num componente fundamental no fluxo destes potenciais perigos na transmissão a predadores de maiores dimensões (60).

Os caracóis terrestres são conhecidos por serem seres sensíveis à acidificação e à poluição dos solos, já que acumulam e armazenam facilmente agentes poluentes nos seus tecidos, como por exemplo metais pesados. Essa habilidade permite que possam ser usados como organismos indicadores e de biomonitorização, detetando e acompanhando terrenos e ambientes contaminados. Não só os solos requerem preocupação, mas também a água, a atmosfera, e principalmente as plantas usadas pelos caracóis na sua alimentação e sujeitas às condições dos meios envolventes e de eventuais contaminações externas (59).

Roma *et al.* (61) concluíram que existia a acumulação de zinco (Zn), chumbo (Pb) e cádmio (Cd) nos tecidos moles de *Helix aspersa* em áreas potencialmente poluídas.

Madejón *et al.* (59) também verificaram uma diferença na concentração de compostos na parte edível de *Theba pisana* em zonas contaminadas, face aos controlos, com diferenças significativas na absorção de cobre (Cu), ferro (Fe), mercúrio (Hg) e sobretudo de arsénio (As) e cádmio (Cd), que excederam nalguns casos os limites máximos legais para a comercialização de géneros alimentícios (59). Este estudo permitiu concluir que os caracóis de zonas contaminadas com metais representam um potencial risco para a saúde humana, e que a apanha de caracóis na zona afetada deveria ser evitada, sugerindo uma monitorização periódica destes caracóis, de forma a avaliar o risco associado ao seu consumo (59).

Em espécies de maior dimensão (*Achatina achatina*), verificou-se que os teores de Cd, Cr, Pb e Se estavam significativamente acima dos limites de segurança para o consumo humano (15). O mesmo se verificou em *Archachatina marginata* para os metais Cu, Pb, Cd, e Co em outro estudo nigeriano (62).

A classe dos gastrópodes apresenta das espécies de invertebrados com maior capacidade de acumulação de metais do reino animal, cuja taxa de acumulação de

elementos vestigiais depende não só das condições ecológicas (dieta, habitat, deslocação...), mas também das características fisiológicas do animal (taxas de assimilação, metabolização e excreção) (63).

Contudo, a monitorização e os estudos relacionados com esta capacidade de bioacumulação dos caracóis não se restringe apenas a metais pesados, mas também a compostos utilizados na agricultura, onde normalmente se incluem os pesticidas, ou outros resíduos (64).

Druart *et al.* (65) quantificaram a presença de resíduos pesticidas em *Helix aspersa aspersa* para aferir a sua exposição, a transferência e os efeitos desses resíduos através do ambiente vinícola após serem aplicados diferentes tratamentos químicos, e confirmaram a transferência de glifosato, tebuconazol e piraclostrobina a concentrações acima dos seus níveis de risco mínimo (65).

Outros estudos realçam a capacidade dos gastrópodes como macroconcentradores de poluentes assimilados, por acumularem concentrações acima dos níveis ambientais (15). Este efeito foi verificado por exemplo para o cádmio e cobre (66).

Os caracóis, podendo ser um veículo de exposição direta do ser humano a determinadas substâncias químicas, podem originar fenómenos de toxicidade aguda ou crónica (63).

No âmbito da saúde pública, toxicologia e segurança alimentar, a EFSA (*European Food Safety Authority*) e outras entidades internacionais estudam os potenciais efeitos para a saúde humana e limites de segurança à exposição de contaminantes e substâncias nocivas, procurando perceber melhor o seu real perigo e estabelecer níveis máximos de exposição e limites permitidos em alimentos sem que estes sejam considerados impróprios para comercialização e consumo.

Também o regulamento nº 853/2004 da comissão europeia (67) aplica recomendações em relação à avaliação da possível toxicidade que os caracóis terrestres podem representar, nomeadamente através de exames organoléticos para avaliar o seu perigo antes da sua comercialização e a remoção do hepatopâncreas após o abate, caso estes órgãos possam representar um risco à saúde humana (67).

Nas últimas décadas, os contaminantes mais associados aos caracóis terrestres incluem microrganismos patogénicos, parasitas, micotoxinas, metais pesados e pesticidas.

No grupo dos potenciais contaminantes dos caracóis, este trabalho dá ênfase aos metais e aos pesticidas porque são contaminantes ambientais de grande impacto na saúde, semelhantes nos efeitos e nos mecanismos de toxicidade e com elevado potencial de acumulação pelos gastrópodes terrestres devido à ocorrência e vasta distribuição nos países industrializados da Europa e à sua resistência a processamentos térmicos, que reforçam a probabilidade de virem a causar efeitos adversos no ser humano através da alimentação.

Para os outros perigos, como a contaminação microbiológica ou parasitária dos caracóis, a toxicidade associada ao consumo dos caracóis afetados não está tão bem documentada.

5.2. Metais

Os metais pesados são compostos químicos presentes naturalmente no ambiente (solos, na atmosfera ou na água) e que podem encontrar-se em concentração vestigiária nos alimentos, através da sua contaminação direta ou indireta, principalmente veiculada por atividades humanas, como por exemplo a agricultura, a indústria, ou através da emissão pelos meios de transporte (68).

Ainda que o termo “metais pesados” seja originalmente baseado na densidade do elemento, existem ainda imprecisões quanto aos valores de densidade atômica considerados, sendo o termo atualmente também frequentemente designado para metais de número atômico superior a 20. Embora a terminologia possa ainda apresentar ambiguidade ou discrepâncias, é facilmente reconhecido e associado a elementos metálicos tipicamente relacionados com problemas de poluição e toxicidade, como por exemplo o Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Zn e o Pb (63,69,70).

Apesar das diversas formas de exposição aos compostos tóxicos, o consumo de plantas, frutos ou animais sujeitos à absorção e acumulação de metais pesados presentes no ambiente, constitui a principal via de exposição a estes elementos para o Homem (60,71). É raro existirem naturalmente no ambiente concentrações suficientemente altas para provocar toxicidade aguda nos seres humanos, pelo que a toxicidade crónica devido à exposição prolongada em baixas doses, constitui a principal preocupação para os seres humanos. Depois de ingeridos, alguns metais pesados permanecem acumulados nos tecidos ou nos ossos e possuem um elevado tempo de semi-vida no organismo, sendo de difícil excreção (63,69,72).

Podendo reagir e adquirir inúmeras formas iônicas ou de misturas complexas, os compostos metálicos estão sujeitos a potenciais efeitos sinérgicos ou antagônicos que irão determinar parâmetros de toxicidade importantes, como o mecanismo de ação e as cinéticas de absorção e excreção, e consequentemente o potencial para provocar toxicidade (69,72). Alguns metais podem inclusivamente apresentar-se na sua forma radioativa, sendo que as concentrações necessárias para a ocorrência de efeitos adversos podem tomar intervalos muito distintos entre os diferentes elementos e estruturas químicas (73).

A elevada persistência dos metais pesados nos ecossistemas e a facilidade com que são assimilados, transmitidos e ampliados dos simples microrganismos a plantas e animais, bem como ao seu elevado tempo de residência, nomeadamente nos solos e nos organismos vivos, são os principais fatores que justificam o risco para a saúde humana (69,70).

Nos sistemas biológicos, o efeito tóxico dos metais pesados está fortemente associado à produção de espécies reativas de oxigénio, e consequentemente ao aumento do *stress* oxidativo celular, que poderá conduzir à lesão dos seus componentes (incluindo o ácido desoxirribonucleico, ADN), à morte celular e ao aumento do risco de desenvolver cancro e doenças relacionadas (64,71). Muitos outros efeitos dos metais pesados no organismo humano prendem-se com o facto de serem desreguladores endócrinos (69). Além da severidade da toxicidade aguda, sub-crónica e crónica, uma das principais preocupações é também a teratogenicidade de muitos destes compostos e as suas implicações no desenvolvimento e no crescimento humano (71,72).

Contudo, além das propriedades inerentes aos metais pesados potencialmente perigosos (Figura 16) e aos fatores intrínsecos a cada tipo de contaminação, nomeadamente a dose, a duração e a via da exposição, também as características de cada indivíduo, como a idade, o sexo, o estilo de vida, o estado clínico ou fatores genéticos, terão influência na manifestação e na resposta à ingestão destes elementos (73).

Nos moluscos gastrópodes, a acumulação destes metais dá-se principalmente no hepatopâncreas, onde ocorre também a transformação de outros xenobióticos, já que a sua captação dá-se maioritariamente pelo trato digestivo (pela ingestão de detritos, solo, plantas, fungos, organismos em decomposição...). A assimilação de alguns metais pesados pelos caracóis pode ainda ser efetuada através do contato com o sistema

tegumentar e tecidos epiteliais, estando o pé recorrentemente em contato com diferentes superfícies (15,62,64). Mesmo em solos, plantas e superfícies moderadamente contaminados, a sua aderência cutânea pode facilmente aumentar o teor de metais nos seus tecidos (59). Também a presença de organismos parasitas hospedados no caracol estabelecem influência na concentração destes poluentes no animal afetado e podem provocar efeitos de amplificação da toxicidade global através da sua acumulação direta ou reduzindo a taxa de excreção dos metais no hospedeiro (62).

A transferência ambiental e a concentração desses metais nos caracóis dependerá ainda de fatores como a sua massa corporal, a temperatura, a estação do ano, a dieta, o seu ciclo reprodutivo e condições relacionadas ao micro-habitat em que estão inseridos, como a biodisponibilidade dos metais pesados (74,75).

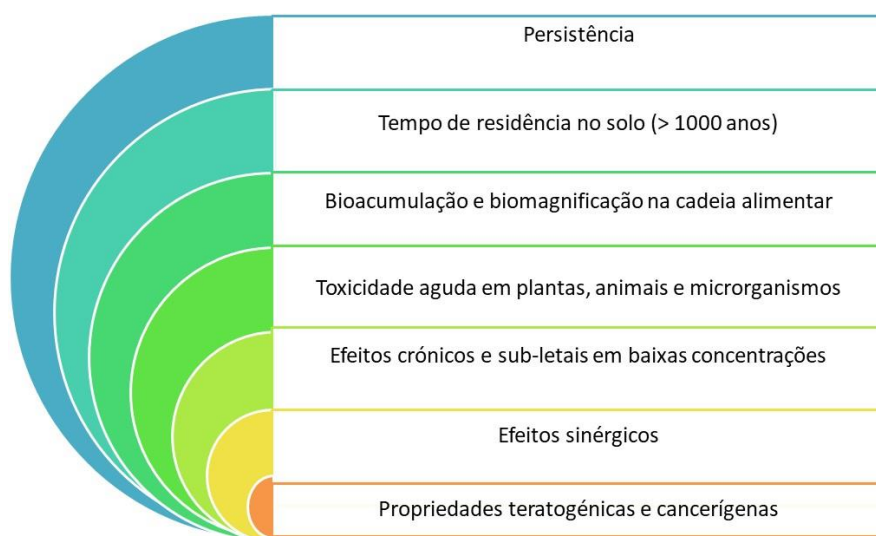


Figura 16 – Principais propriedades dos metais que podem levar a danos na saúde humana.

O chumbo, o arsênio, o mercúrio, o cobre, o zinco e o cádmio são alguns dos principais metais pesados presumíveis à bioacumulação em ecossistemas e à exposição humana através do consumo de alimentos ou água contaminados, pela sua elevada presença e contato com os seres vivos, nomeadamente os caracóis (68,71). O chumbo, o mercúrio e o cádmio são especialmente persistentes por não serem biodegradáveis no ambiente, podendo permanecer por largos períodos retidos na natureza ou ser distribuídos em larga

escala para novos locais, aumentando a sua biodisponibilidade a diversos organismos vivos. (71) Também por não apresentarem qualquer função biológica essencial conhecida, este trio de metais apresenta muitas vezes um estatuto de maior relevância no que diz respeito à segurança alimentar (61).

Em sentido contrário, alguns elementos metálicos constituem uma menor preocupação para o ser humano, por serem simultaneamente necessários a diversas funções biológicas na maior parte dos seres vivos, em concentrações adequadas. Estudos sugerem que metais essenciais apresentam certo grau de regulação iónica nos caracóis, nomeadamente por compartimentação celular ou pela sua complexação a metalotioneínas específicas (15,63). Já nos metais não essenciais, como chumbo, mercúrio e cádmio, provavelmente, essa regulação é menor ou inexistente (63). O cobre, zinco, selénio, manganês e cobalto são exemplos de metais pesados também definidos de forma comum como nutrientes essenciais para plantas, sendo, em conjunto com o níquel, considerados importantes ou essenciais para os organismos vivos, apesar de poderem também apresentar toxicidade (61).

O tálio, o urânio, o antimónio ou o vanádio são exemplos de outros metais tóxicos menos abundantes (61).

As doses toleráveis de cada espécie para cada metal diferem, assim como as toxicidades exibidas em função de cada via de administração. Para o ser humano, existem evidências suficientes para confirmar a toxicidade e o efeito de metais pesados nos diversos sistemas orgânicos e em diferentes órgãos por exposição oral (Figura 17).

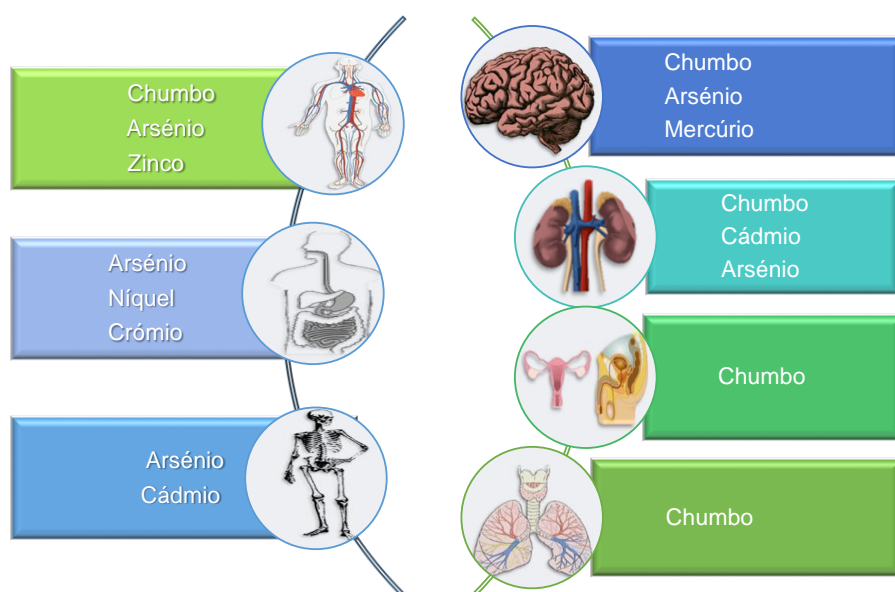


Figura 17 – Sistemas e órgãos mais afetados por diferentes metais pesados no corpo humano por via oral.

De acordo com a *Agency for toxic substances and disease registry* (ATSDR), tendo em conta o risco de substâncias tóxicas para a saúde com base nos impactos imediatos conhecidos, na sua frequência e na vulnerabilidade ou propensão à exposição prolongada em humanos até níveis tóxicos, o arsênio, o chumbo e o mercúrio representavam as três substâncias de maior preocupação para a saúde pública em 2017, seguindo-se o cádmio e o crômio (76).

A agência internacional para a investigação na área do cancro (*International Agency for Research on Cancer*, IARC) confirma a carcinogenicidade do cádmio, do arsênio, do crômio e do níquel, categorizando-os como substâncias de grupo 1, correspondente a agentes já comprovadamente carcinogénicos para humanos (72). Estes índices de toxicidade, apesar de considerarem também outras formas de exposição de elevado impacto, como a exposições por inalação, sugerem o risco e os efeitos destes elementos em distintos órgãos, muitas vezes aplicável a qualquer forma de transmissão.

A investigação do potencial cancerígeno e as implicações de elementos metálicos e dos seus compostos na saúde humana, nomeadamente pela sua incorporação no sistema através da dieta, tem vindo a ser amplamente estudado para as principais substâncias, e são comprovadas inúmeras implicações em humanos e animais (73) (Tabela 2), apesar de ser ainda necessário confirmar ou aprofundar o conhecimento acerca de muitos dos

mecanismos de toxicidade oral e efeitos para muitos elementos, principalmente os mais raros (73).

Tabela 2 – Principais efeitos de toxicidade crónica por ingestão de alguns metais pesados mais representativos.

Metal	Toxicidade Crónica
As	Efeitos na pele (hiperpigmentação, hiperqueratose, verrugas...); Neuropatia periférica; Aumento do risco de cancro (pele, pulmões, fígado e bexiga...); Lesões nos rins e na bexiga; Efeitos hematológicos e cardiovasculares (destruição de eritrócitos, doenças cardíacas, aumento da pressão sanguínea...) (78); Efeitos teratogénicos e aumento do risco de aborto (78); Diminuição da produção de medula óssea (70,78); Lesões hepáticas (70,78)
Cd	Lesões renais (disfunção nos tubos renais, lesão glomerular, cálculo renal...); Problemas ósseos (desmineralização, fraturas...); <u>Em animais:</u> Anemia, doenças hepáticas e lesões cerebrais; Diabetes (70)
Cr	<u>Em animais:</u> Anemias; Redução do esperma e danos no sistema reprodutor masculino; Tumores gastrointestinais (73)
Pb	Doenças no sistema nervoso (diminuição da capacidade cognitiva e aprendizagem, distúrbios de atenção e memória, alteração das funções neurosensoriais e neuromotoras...); Lesões renais (proteinúria, efeito na filtração glomerular...); Anemia; Aumento da pressão sanguínea e risco de hipertensão; Abortos espontâneos e partos prematuros; Lesões na qualidade do esperma e no sistema reprodutor masculino; Desenvolvimento retardado e anormal; Cancro (pulmão e bexiga) (70); <u>Em animais:</u> Cancro nos rins
Hg	Efeitos teratogénicos e problemas neurológicos (distúrbios de fala, audição e visão, crescimento retardado, atraso mental, perdas de memória...) (79); <u>Em animais:</u> Lesões nos rins, no intestino delgado e no estômago; Alterações cardíacas e na pressão sanguínea; Danos no sistema nervoso; Efeitos adversos no sistema reprodutor masculino, no esperma, em fetos e aumento de abortos espontâneos; Desenvolvimento de cancro renal (machos)
Ni	Cancro oral (70); <u>Em animais:</u> Doenças pulmonares (cão); Lesões no estômago, sangue, rins, fígado e efeitos no sistema imunitário, na reprodução e no desenvolvimento
Zn	Redução no número de eritrócitos e do hematócito; Deficiência de cobre; Lesões no pâncreas; Redução dos níveis de colesterol HDL

O estabelecimento de recomendações e de limites máximos provisórios para a exposição aguda, sub-crónica e crónica de metais nocivos é uma ferramenta muito importante para assegurar a prevenção de intoxicações promotoras de doença ou até da morte. A ATSDR estabelece os limites provisórios diários para vários metais pesados tóxicos suscetíveis de serem ingeridos pelo ser humano (Tabela 3), tendo em consideração a variabilidade entre intervalos de exposição aguda (1 a 14 dias), sub-crónica (15 a 364 dias) e crónica (um ano ou superior) (73).

Tabela 3 – Nível de risco mínimo estimado para a exposição oral para diferentes metais (mg/kg/dia).

Metal	Toxicidade aguda	Toxicidade sub-crónica	Toxicidade crónica
As	0,005	0,0003	-----
Be	0,002	-----	-----
Cd	-----	0,0005	0,0001
Cr	-----	0,005	0,0009
Hg (metilmercúrio)	-----	-----	0,0003
Mo	-----	0,008	-----
Sb	1	0,0006	-----
Se	-----	-----	0,005
Sn	-----	0,0003 – 0,3	0,0003
Sr	-----	2	-----
V	-----	0,01	-----
Zn	-----	0,3	0,3

Ainda que não existam limites máximos específicos para a carne de caracol, o regulamento nº 1881/2006 da comissão europeia (77) estabelece concentrações máximas de certos contaminantes para vários grupos de géneros alimentícios acima das quais a sua comercialização se torna proibida, nomeadamente o teor de alguns metais em moluscos bivalves e partes comestíveis de peixe. O teor máximo de chumbo nestes alimentos é de 1,50 mg/kg e 0,30 mg/ kg (peso fresco), respetivamente. Para o cádmio, estes valores são de 1,0 mg/kg e 0,050 mg/kg, respetivamente. São ainda referidos limites para o mercúrio de 0,50 mg/kg de muitos produtos da pesca e na parte comestível do

peixe, e limites de estanho e arsénio (noutros tipos de alimentos) nas suas formas inorgânicas (77).

No âmbito deste trabalho analisaram-se os seguintes metais pesados: alumínio, bário, silício, ferro, manganês, cobre, boro, lítio, berílio, vanádio, crómio, cobalto, níquel, zinco, arsénio, estrôncio, molibdénio, prata, cádmio, estanho, antimónio, tálio e chumbo.

5.3. Pesticidas

Os pesticidas são substâncias que se destinam a prevenir, destruir ou controlar determinado organismo ou doença prejudicial nas plantas e nos seus derivados, sendo aplicados principalmente no setor agrícola, mas também em atividades florestais ou jardinagem (80).

Com o crescimento das populações a nível mundial e a necessidade de aumentar a demanda alimentar, acentuou-se a procura de novas medidas para desenvolver métodos de produção alternativos e de prevenção de perdas, de modo a acompanhar essa evolução. O contributo dos pesticidas e a sua eficiência no aumento de produtividade, do rendimento das colheitas e da produção de alimentos, tornaram-nos num recurso muito usado e muito importante no setor agrícola. No entanto, a disseminação abrupta de pesticidas tem igualmente efeitos graves nos ecossistemas e biota, sendo que podem possuir um elevado grau de bioacumulação e persistência. Além dos pesticidas atualmente utilizados, também existe a preocupação e perigo para a saúde ambiental, animal e humana de alguns pesticidas já banidos do mercado, uma vez que eles ainda podem ser detetados em diversos recursos naturais, inerentes à sua persistência e transporte para zonas variadas e distantes, tornando a sua presença involuntária em alimentos uma possibilidade constante (81).

Os pesticidas desdobram-se, entre outros, e com base na sua função, em: herbicidas, inseticidas, fungicidas, acaricidas, nematocidas, rodenticidas, moluscicidas, reguladores de crescimento, repelentes e biocidas (80). Podem também ser divididos de acordo com sua composição e estrutura química, desde logo em dois grandes grupos de origem: Os pesticidas orgânicos, que podem ser naturais ou sintéticos, e os inorgânicos, que são de origem mineral e podem inclusivamente conter metais pesados na sua constituição. Dividem-se ainda, quimicamente, em classes como organoclorados, organofosforados,

carbamatos, piretróides ou neonicotinóides (81), produzindo riscos e efeitos diversos consoantes as suas principais propriedades (Tabela 4), que determinarão a sua acumulação e persistência ambiental, os seus mecanismos de ação e excreção, e tempos de residência nos organismos vivos (82).

Tabela 4 – Principais propriedades de toxicidade de organoclorados, organofosforados, carbamatos, triazinas e piretróides.

Organoclorados	Organofosforados	Carbamatos	Triazinas	Piretróides
Altamente apolares	Lipossolúveis	Degradam-se rapidamente; não bioacumulativos	Bastante tóxicas e persistentes	Baixa toxicidade (alternativa a organoclorados)
Alta estabilidade química e lenta biodegradação	Decomposição em dias ou semanas			Pouco impacto ambiental
Persistente no ambiente				Facilmente absorvidos
Elevada bioacumulação nos tecidos				
Muito tóxicos				

Entre os principais efeitos crónicos dos pesticidas encontram-se recorrentemente potencial carcinogénico, teratogénico e efeitos no sistema nervoso, imunológico e endócrino (82–84) (Tabela 5).

Devido às contaminações involuntárias ou cruzadas, os pesticidas representam componentes tóxicos muito abundante em zonas rurais e muito suscetíveis a serem absorvidos por plantas e consequentemente, por animais que delas se alimentam e que entram em contacto com a sua superfície, como é o caso dos caracóis terrestres. Tal como acontece com a maioria dos poluentes, também a água, os solos e a atmosfera se tornam suscetíveis à contaminação e à presença de resíduos de pesticidas e dos seus metabolitos, o que aumenta a vulnerabilidade de toda a biota inserida no ecossistema e em todas as cadeias alimentares que se estabelecem (85).

Tabela 5 – Principais problemas de toxicidade aguda e crónica de diferentes grupos de pesticidas.

Função	Grupo químico	Toxicidade aguda	Toxicidade crónica
Inseticidas	Organofosforados e carbamatos	Vómitos, dores abdominais, diarreia, espasmos musculares, tremores, sudorese...	Efeitos neurotóxicos (interrupção de transmissão de impulsos nervosos...), alterações cromossómicas, distúrbios cardiorespiratórios (broncoconstrição, bradicardia)...
	Organoclorados	Náuseas, vômitos...	Lesões hepáticas e renais, arritmias cardíacas, neuropatias periféricas, problemas imunológicos e endócrinos, potenciais efeitos teratogénicos e carcinogénicos...
	Piretróides sintéticos	Convulsões	Hipersensibilidade, asma brônquica...
Fungicidas	Ditiocarbamatos	Vómitos, tonturas, tremores...	Doença de Parkinson, cancros...
	Fentalamidas		Efeitos teratogénicos
Herbicidas	Dinitroferóis e pentaciclolorofenol	Dificuldade respiratória, convulsões, hipertermia	Cancros
	Fenoxiacéticos	Enjoo, vômitos...	Cancros, efeitos teratogénicos...
	Dipiridilos	Desmaios	Lesões hepáticas, fibrose pulmonar...

Nos caracóis terrestres, a possibilidade de existirem resíduos pesticidas adquire uma relevância particular, por serem considerados pragas biológicas e por serem aplicados tratamentos químicos específicos às plantações que lhes são mais propensas, de modo a evitar que estas lhes sirvam de alimento.

Mesmo existindo ainda muitos pesticidas com carência de informações importantes para o seu conhecimento toxicológico aprofundado (81), a base de dados europeia de pesticidas (86) compila uma extensa lista de resíduos pesticidas e os seus respetivos limites máximos tolerados em géneros alimentícios e rações seguindo a aplicação correta desses mesmos pesticidas, que se encontram estabelecidos no anexo B do regulamento nº 396/2005 da comissão europeia (87), relativo aos limites máximos de resíduos de pesticidas no interior e à superfície dos géneros alimentícios e dos alimentos para animais, de origem vegetal ou animal, e que abrange também os caracóis do género *Helix*.

No âmbito deste trabalho analisaram-se os seguintes pesticidas (Figura 18): bentazona, carbendazim, carbofurão, cimoxanil, clorpirifos, clortolurão, desetilatrizona, desetilterbutilazina, desisopropilatrizona, dimetoato, diurão, 2,4-D, fosmete, imidacloprida, isoproturão, linurão, MCPA, metidatião, metiocarbe, pirimetanil, propanil, tebuconazol e triclopir.



























 Herbicidas	 Inseticidas	 Fungicidas
<ul style="list-style-type: none">  Bentazona  Clortolurão  Desetilatrizona  Desetilterbutilazina  Desisopropilatrizona  Diurão  2,4-D  Isoproturão  Linurão  MCPA  Propanil  Triclopir 	<ul style="list-style-type: none">  Carbofurão  Clorpirifos  Dimetoato  Fosmete  Imidacloprida  Metidatião  Metiocarbe 	<ul style="list-style-type: none">  Carbendazim  Cimoxanil  Pirimetanil  Tebuconazol

Figura 18 – Lista de resíduos pesticidas quantificados nos caracóis.

Capítulo II. Metodologias analíticas

Para a seleção do método mais adequado entre a grande variedade de métodos analíticos disponíveis para a quantificação dos parâmetros nutricionais e físico-químicos estudados, tiveram de ser considerados fatores fundamentais, nomeadamente, o objetivo das análises, parâmetros a quantificar, a natureza das amostras e os recursos disponíveis à sua aplicabilidade. Estes fatores foram complementados com outros fatores de natureza prática (rapidez, custo e segurança) e de qualidade analítica (sensibilidade, a precisão e a exatidão).

Após seleção do método mais adequado, o seu sucesso analítico dependerá, da validação do método, da amostragem, da aplicação do método (pré-tratamento e quantificação), das condições experimentais e do controlo de qualidade, dos cálculos e da interpretação dos resultados (88).

Na literatura são referenciadas diferentes metodologias analíticas para a determinação de parâmetros físico-químicos, nutricionais e toxicológicos para a carne de caracol terrestre de diferentes espécies, embora poucos deles se debrucem especificamente sobre as espécies estudadas neste trabalho.

1. Determinação de gordura

A quantificação de lípidos totais na área alimentar, incluindo nos estudos apresentados de caracterização nutricional para caracóis, é tradicionalmente realizada por gravimetria após extração por um solvente orgânico. A maioria dos lípidos presentes em alimentos está na forma de triglicéridos. A insolubilidade dos lípidos em água e a utilização de um solvente orgânico permitem a sua separação dos outros nutrientes e constituintes hidrofílicos do caracol, tais como proteínas, hidratos de carbono e minerais (88–90).

A preparação da amostra (eliminação de interferentes) e o processo de extração (seleção dos solventes de extração e tipo de extração) são fundamentais, uma vez que os problemas mais frequentes devem-se à co-extração involuntária de componentes não lipídicos indesejados, oxidações (por exemplo pelo aquecimento excessivo na hidrólise), perda de compostos voláteis e a dificuldade em extrair a fração de interesse devido à sua associação com outras moléculas (90).

Para facilitar o isolamento e a extração dos lipídios, muitas vezes ligados a outros componentes, as matrizes alimentares podem sofrer pré-tratamento(s), como a trituração e homogeneização, secagem e digestão ácida. Os métodos convencionais mais utilizados para as carnes (Tabela 6) variam de acordo com os tipos de extração efetuada, que podem ser contínuos, semi-contínuos ou descontínuos, e oferecem diferentes vantagens e limitações, consoante os objetivos pretendidos (88,90).

Tabela 6 – Principais vantagens e limitações de métodos clássicos de extração de gordura em carnes.

Método	Vantagens	Limitações
Extração a quente com solvente orgânico	<ul style="list-style-type: none"> • Automatização no processo de extração • Boa repetibilidade • Método padronizado 	<ul style="list-style-type: none"> • Mais aplicado a alimentos de baixo teor de água • Processo demorado • Não extrai lipídios polares • Potenciais resultados por defeito • Controlo de tempo e temperatura
Extração a frio com clorofórmio/metanol	<ul style="list-style-type: none"> • Extrai todas as classes de lipídios • Maior simplicidade (sem equipamentos especializados) • Permite utilização do extrato para posterior caracterização de ácidos gordos 	<ul style="list-style-type: none"> • Procedimento demorado • Condições do método são críticas • Potencial co-extração proteica • Solventes mais tóxicos
Hidrólise ácida + extração com solventes orgânicos	<ul style="list-style-type: none"> • Extração de todos os tipos de lipídios • Boa repetibilidade 	<ul style="list-style-type: none"> • Processo demorado • Extração de alguns compostos não lipídicos • Método mais destrutivo

Na extração a quente recorre-se a solventes de polaridade coincidente com a solubilidade dos lipídios, como por exemplo o hexano, o éter etílico ou o éter de petróleo. Este tipo de extração engloba equipamentos de extração de Goldfish (contínuo) e de

Soxhlet (semi-contínuo), que é o mais utilizado para a determinação de gordura total em alimentos, sendo o método descrito nos métodos da AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*) e referenciais normativos nacionais (NP, normas portuguesas) ou internacionais (ISO, *International Standard Organization*) para vários alimentos, incluindo carnes e produtos cárneos (88,90,91).

A extração a frio tem como principal vantagem a ausência da aplicação de temperaturas elevadas, o que permite preservar ácidos gordos de baixo peso molecular e ácidos gordos insaturados presentes na amostra de modo a caracterizar e estudar mais aprofundadamente a matéria gorda, além de permitir extrair todo o tipo de componentes lipídicos, incluindo os neutros ou polares (como os fosfolípidos, esteróis ou hidrocarbonetos) (88,90).

Nos processos de extração descontínuos inserem-se as hidrólises ácidas, mais utilizadas para extração de gordura ligada a outros componentes, e que são mais destrutivos, podendo hidrolizar triglicéridos e fosfolípidos, dependendo da concentração de ácido usada. As hidrólises ácidas podem dividir-se no processo de Gerber ou de Babcock, estando associados a metodologias oficiais da AOAC para ovos, molhos ou farinhas, por exemplo, mas também para o leite e produtos lácteos (88,90,91).

Alguns dos métodos mais utilizados para a carne de caracol incluem métodos de referência oficiais para a determinação de gordura total em carnes, por extração em Soxhlet, e também a extração com clorofórmio/metanol (Tabela 7).

Como o caracol é um alimento com baixo teor de gordura, deve ser aplicada uma metodologia eficiente que garanta a extração de toda a matéria gorda disponível e que não promova a interferência de outros componentes em abundância na sua constituição, como por exemplo as proteínas.

Os estudos recolhidos para a determinação de gordura em caracóis confirmam que a extração com clorofórmio/metanol em caracóis é utilizada sobretudo com o intuito de aliar uma posterior caracterização da sua fração lipídica. Alguns autores recorrem também à hidrólise ácida como forma de extração (Tabela 7). Contudo, a sua utilização não é usual, pois compostos como o glicerol, hidratos de carbono de baixo peso molecular, produtos de polimerização, aminoácidos ou sais de ureia podem potencialmente ser extraídos e sobrestimar o valor da gordura total (90).

Tabela 7 – Diferentes estudos de determinação de matéria gorda total em caracóis terrestres.

Espécie estudada	Metodologia	Gordura total (%)	Ref.
<i>Helix aspersa</i>	Extração de hidrólise ácida (Weilmeier & Regenstein, 2004)	0,6	(14)
<i>Helix aspersa maxima</i>	Extração com clorofórmio-metanol (Bligh & Dyer, 1959)	0,5 – 2,7	(92)
<i>Helix aspersa aspersa</i>		1,2	(48)
<i>Helix pomatia</i>		1,6	
<i>Helix lucorum</i>		1,1	
		0,4	(51)
<i>Cernuella virgata</i>	Extração por Soxhlet (BAS ISO 1443)	1,2 – 1,7	(16)
<i>Archachatina marginata</i>	Extração por éter (AOAC, 2005)	2,4	(50)
<i>Achatina achatina</i>		2,2	
<i>Achatina fulica</i>		1,6	

1.1. Extração da gordura por Soxhlet

A extração da gordura pelo aparelho de Soxhlet consiste na passagem repetida de solvente pela amostra em análise, de modo a favorecer a eficiência da extração de toda a matéria gorda solúvel. Para tal, é também necessário que a amostra seja previamente moída e desidratada, de forma a facilitar a posterior ação do solvente orgânico pelo aumento da área superficial do alimento analisado e pela remoção da água presente, que constituiria uma barreira à penetração do solvente de extração e captação dos lípidos nele contidos. A extração é precedida de uma hidrólise ácida para permitir a quebra das ligações entre compostos lipídicos e compostos polares, como por exemplo em proteínas (lipoproteínas) e os glúcidos (glicolípidos) (88,90).

O aparelho de Soxhlet consiste no extrator de Soxhlet suspenso sobre um balão de vidro (contendo o solvente), e sob um condensador associado a um sistema de circulação de água fria (Figura 19). A amostra previamente tratada e inserida num cartucho de extração de celulose, é colocada no extrator. Com o aquecimento do balão, o solvente é evaporado e alcança o condensador, onde irá voltar à sua forma líquida e gotejar para o

extrator, ocorrendo aí o contato constante entre o solvente quente e a amostra, e consequentemente a extração de matéria gorda. Após alcançar o nível máximo do extrator, o solvente é automaticamente escoado de volta para o balão, arrastando a fase lipídica extraída e nele dissolvida. No balão, ficará retida toda a matéria extraída (de baixa volatilidade), e o solvente de extração voltará a evaporar para se iniciar um novo ciclo. Este processo é sucessivamente repetido de forma a assegurar a melhor extração possível, sendo que são aconselhadas mais de 6 horas de ensaio (88,90). No fim do processo de extração, o solvente retido no balão é evaporado e o extrato de matéria gorda no balão é seco para a remoção de humidades ou interferentes voláteis.

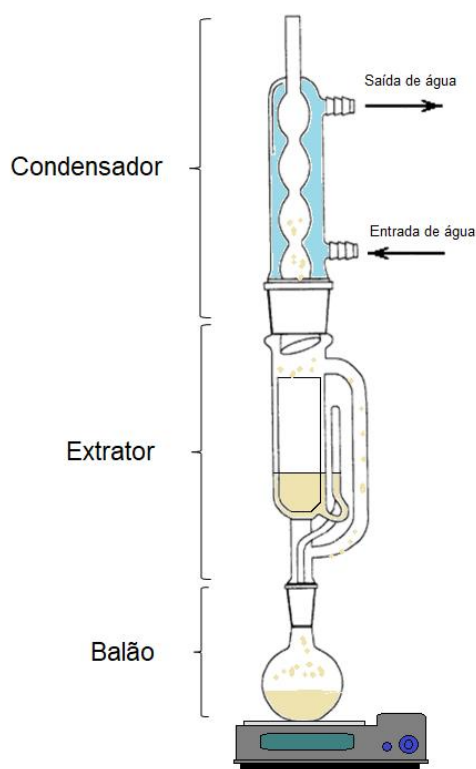


Figura 19 – Montagem do aparelho de Soxhlet para a extração de gordura total do alimento.

2. Determinação de Proteínas

A quantificação de proteínas em carnes é predominantemente realizada através do método de Kjeldahl, o que coincide com a maioria dos estudos efetuados em carne de caracol (Tabela 3), sendo um método oficial adotado pela AOAC, por normas nacionais e

internacionais para a análise de carnes e pescado, e recomendado pelo *Codex Alimentarius* (88,91,93).

Outro método utilizado para a carne de caracol é a colorimetria, nomeadamente a técnica de Lowry, que quantifica o teor proteico por espectrofotometria de absorção molecular. Existem ainda, como alternativas mais utilizadas em estudos nutricionais, os métodos espectrofotométricos de Bradford, do biureto ou de BCA (ácido bicinconínico), assim como métodos de combustão do azoto ou de espectroscopia de infravermelhos (88).

A Tabela 8 sumariza os métodos aplicados às várias espécies de caracol e os respetivos teores proteicos.

Tabela 8 – Diferentes estudos de determinação de proteínas em caracóis terrestres.

Espécie estudada	Metodologia	Proteína total (%)	Ref.
<i>Helix aspersa</i>	Método de Kjeldahl (AOAC 955.04)	12,9	(14)
<i>Helix aspersa maxima</i>	Método de Kjeldahl (Curniff, 1998)	9,50 – 12,6	(92)
	Espectrofotometria UV-VIS (Lowry <i>et al.</i> 1951)	7,2	(48)
<i>Helix aspersa aspersa</i>		10,5	
<i>Helix pomatia</i>		10,7	
	Método de Kjeldahl (AOAC, 1994)	16,4	(51)
<i>Helix lucorum</i>	Espectrofotometria UV-VIS (Lowry <i>et al.</i> 1951)	10,8	(48)
<i>Cernuella virgata</i>	Método de Kjeldahl (BAS ISO 937)	15,0 – 17,2	(16)
<i>Archachatina marginata</i>	AOAC (2005)	19,5	(50)
<i>Achatina achatina</i>		17,3	
<i>Achatina fulica</i>		10,1	

Entre as duas metodologias mais utilizadas (métodos de Kjeldahl e Lowry), destaca-se amplamente a quantificação de azoto pela técnica de Kjeldahl, representada em procedimentos oficiais. Ainda assim, ambas as técnicas possuem características que podem justificar a sua utilização para a carne de caracol (Tabela 9) (88,93,94).

Tabela 9 – Vantagens e desvantagens do método de Kjeldahl e de Lowry para a determinação de proteínas em caracóis.

	Vantagens	Desvantagens
Método de Kjeldahl	<ul style="list-style-type: none"> • Simples e barato • Facilmente automatizado • Elevada precisão e reprodutibilidade • Usado em metodologias oficiais • Ampla utilização e com versões melhoradas • Poucas interferências 	<ul style="list-style-type: none"> • Quantifica azoto total (não apenas proteico) • Demorado • Utilização de agentes corrosivos • Utilização de fator de conversão
Método de Lowry	<ul style="list-style-type: none"> • Elevada sensibilidade • Simples 	<ul style="list-style-type: none"> • A cor não é estritamente proporcional à concentração proteica • A cor varia para diferentes proteínas • Interferência de vários compostos

2.1. Método de Kjeldahl

A técnica de Kjeldahl tem como base a quantificação volumétrica de azoto nas amostras e a posterior conversão desse azoto à sua fração proteica correspondente, através de um fator de conversão (fator de Jones) adequado a cada tipo de alimento. Esta abordagem está assente nos princípios de que os restantes macronutrientes (gorduras e hidratos de carbono) não possuem azoto na sua constituição, e que quase todo o azoto presente nos alimentos provém dos seus aminoácidos (88,94).

A quantificação de azoto não inclui a fração constituinte dos nitratos e nitritos, nem necessariamente todo o azoto orgânico. Apenas é determinado o azoto trivalente negativo, relativo a azoto orgânico e amoniacal (95). Contudo, o azoto orgânico do tipo azida, azina, azóico, hidrazona, nitrito, nitro, nitroso, oxima ou semicarbazona não é

determinado quantitativamente (95). Em compostos heterocíclicos, o azoto pode não ser recuperado completamente (95).

O método de Kjeldahl pode ser dividido em três fases: A mineralização da amostra, a neutralização e destilação, e a titulação (88).

A digestão da amostra é realizada a elevadas temperaturas, com ácido sulfúrico concentrado e um catalizador, como o sulfato de cobre. Nesta etapa, por intermédio do ácido sulfúrico, os compostos de azoto determináveis são convertidos a sulfato de amónio (88,94). Antes da destilação, é adicionada a solução básica de hidróxido de sódio à amostra digerida, de modo a libertar o amoníaco do sulfato de amónio, que é posteriormente destilado e recolhido num erlenmeyer contendo a solução de ácido bórico (forma-se bromato de amónio) e uma solução indicadora de vermelho de metilo/azul de metileno (88,93,94). A última fase do método consiste na titulação do destilado recolhido com um ácido forte, cujo ponto final é dado pela mudança de cor face ao indicador utilizado (88).

Alguns dos possíveis interferentes na amostra são nitratos em elevadas concentrações, podendo provocar interferências negativas (pela oxidação do amoníaco gerado na digestão) ou interferências positivas (pela redução de nitratos a amoníaco, quando há matéria orgânica significativa com baixo nível de oxidação) (95). Também sais ou matéria orgânica podem representar interferências positivas. O balanço adequado entre sais e ácidos na fase de digestão, que pode ser afetado pela incorreta aplicação das normas, é muito importante para não provocar aumentos ou reduções de temperaturas a níveis inadequados, que podem manifestar-se na pirólise de compostos quantificáveis, quando excessivas, ou na digestão ineficaz e recuperações baixas, quando insuficientes (95).

Desde o desenvolvimento da metodologia de Kjeldahl original, muitas alterações já foram realizadas de modo a aperfeiçoar as análises, sendo uma metodologia que continua em constante evolução (88). Algumas inovações na técnica são o uso de novos tipos de catalizadores metálicos (selénio ou titânio) ou outras substâncias adjuvantes no processo de digestão, bem como a substituição da titulação final por técnicas colorimétricas (Método de Nessler ou método do fenato) ou por cromatografia de troca iónica, tornando-se num método cada vez mais automatizado. Algumas modificações permitem a quantificação de azoto à escala dos microgramas, o que provocou o aparecimento de novos métodos e nomenclaturas como por exemplo o método de micro Kjeldahl, já

adotado por entidades de referência internacional, como por exemplo a AOAC (método 960.52) (88,96).

3. Determinação de hidratos de carbono

No que diz respeito ao conteúdo de hidratos de carbono totais, a metodologia oficial sugerida, nomeadamente por referenciais como *Codex Alimentarius* e a AOAC, é o cálculo desse parâmetro por diferença, ou seja, a subtração do teor proteico, lipídico e de cinzas obtidos a todo o componente de matéria seca do alimento (88,91).

Em contraste, os métodos analíticos para a determinação de açúcares na sua forma simples abrangem uma grande variedade de metodologias. A evolução das metodologias para a determinação dos hidratos de carbono seguiu, de forma geral, uma sucessão de diferentes abordagens analíticas: Desde a utilização de métodos colorimétricos qualitativos, até à sua adaptação para métodos de quantificação dos açúcares redutores (por redução do cobre), seguindo-se os métodos de quantificação mais sofisticados como a cromatografia de camada fina, a cromatografia gasosa e por fim a cromatografia líquida de alta eficiência, em paralelo com a exploração e aperfeiçoamento de novas abordagens, como por exemplo a espectrometria de massa, infravermelhos ou de fluorescência, entre outras (88,93).

Para a determinação do teor de açúcares totais, é normalmente requerida a extração dos compostos mono-, di- e oligossacáridos da amostra, normalmente por uma solução etanólica a quente, seguindo-se habitualmente algum processo de clarificação da matriz alimentar e remoção de interferentes, entre os quais proteínas e gorduras (88,97).

Nos métodos espectrofotométricos mais comuns para determinação de açúcares redutores, existem muitos interferentes a ter em conta, nomeadamente compostos ou matéria coloidal ou insolúvel que absorva radiação ao mesmo comprimento de onda ou que refrate a luz incidente, provocando falsos resultados. Também produtos de hidrólise dos açúcares e compostos de reações com outros componentes, como acontece nas reações de Maillard em alimentos proteicos como o caracol, podem interferir na correta quantificação de açúcares (88,93). Os métodos sulfúrico-fenol de Somogyi–Nelson, o método da antrona e o método do DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico) são dos mais reconhecidos métodos espectrofotométricos para a quantificação de açúcares (88,97). Outros tipos de métodos de quantificação de açúcares redutores incluem por exemplo o

método de Munson-Walker (gravimetria) ou técnicas titulométricas como a técnica de Lane-Eynon, a técnica de Luff-Schoorl ou a técnica do EDTA (88,97).

Contudo, para análises específicas de mono- e polissacáridos, a cromatografia é uma das alternativas mais utilizadas em alimentos, nomeadamente a cromatografia gasosa (GC, *Gas chromatography*) e o HPLC (*High-performance liquid chromatography*) com diferentes fases estacionárias: fase normal, fase reversa, de troca aniónica (AE-HPLC) e de troca catiónica (88,93). O Serviço de Inspeção e Segurança Alimentar do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (*United States Department of Agriculture*, USDA) recomenda o uso do HPLC para a determinação de açúcares em carnes (88).

Existem poucos estudos e conclusões relativas ao teor de hidratos de carbono em caracóis, quer totais, quer sob a forma de açúcares redutores. No entanto, obtendo outros parâmetros nutricionais reportados (teor de água, proteínas, gordura e cinzas), é possível determinar os respetivos resultados de hidratos de carbono por diferença (Tabela 11). Sendo uma fórmula de cálculo muito abrangente, de fácil e rápida determinação, tem como grande limitação a possibilidade de levar a resultados inexatos devido a erros experimentais anteriores na determinação de qualquer um dos outros parâmetros (98). Outras limitações são a inclusão de compostos indesejados nessa determinação, tal como produtos de reação de Maillard e ácidos orgânicos, e o facto de não permitir o estudo qualitativo dos hidratos de carbono presentes nos caracóis (99).

No que se refere à quantificação de açúcares totais em caracóis terrestres, apesar da carência de estudos nutricionais neste parâmetro, é possível encontrar algumas determinações de açúcares em componentes específicos do caracol (Tabela 10). Para caracóis marinhos, que são dos moluscos que taxonomicamente mais se aproximam aos caracóis terrestres e que podem dar a ideia de metodologias a aplicar em caracóis terrestres, são também encontradas algumas determinações de açúcares (Tabela 10).

Tabela 10 – Diferentes estudos de determinação de hidratos de carbono em caracóis terrestres.

Espécie	Parâmetro	Metodologia	Teor (%)	Ref.
<i>Helix aspersa maxima</i>	Monossacáridos totais	Cromatografia gasosa (Kemerling, Gerwig, Vligenthart & Clamp, 1975)	1,7	(48)
<i>Achatina fulica</i>	Açúcares redutores totais (na hemolinfa)	Espetrofotometria (Somogyi–Nelson, 1944)	1,2	(100)
<i>Lanistes Caratinatus</i> (caracol marinho)	Açúcares totais (na glândula digestiva)	Espetrofotometria (Método sulfúrico-fenol – Dubois <i>et al.</i> , 1956)	0,1	(101)
	Açúcares redutores totais (na glândula digestiva)	Espetrofotometria (Método DNS – Bernfeld, 1951)	0,02	

Tabela 11 – Teor de hidratos de carbono (HC) totais calculados por diferença segundo resultados de vários estudos nutricionais de caracóis terrestres.

Espécie estudada	HC totais (%)	Ref.
<i>Helix aspersa</i>	3,0	(14)
<i>Helix aspersa maxima</i>	7,1 – 10	(92)
	2,9	(48)
<i>Helix pomatia</i>	1,3	(51)
<i>Cernuella virgata</i>	1,0 – 2,9	(16)
<i>Archachatina marginata</i>	1,8	(50)
<i>Achatina achatina</i>	3,0	
<i>Achatina fulica</i>	7,3	

Na comparação das principais metodologias de quantificação de açúcares totais associadas (direta- ou indiretamente) aos caracóis terrestres, destacam-se a cromatografia gasosa (GC) e a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (Tabela 10). Na comparação entre estes dois tipos de cromatografia ou de outros métodos, nomeadamente, espectrofotométricos, gravimétricos e volumétricos, podem ser estabelecidas algumas vantagens e desvantagens (88,97,98,102), tal como apresentado na Tabela 12.

Tabela 12 – Vantagens e desvantagens dos principais métodos para a determinação de açúcares.

	Vantagens	Desvantagens
HPLC	<ul style="list-style-type: none"> • Rápido • Tolera grande gama de concentrações • Não é necessária derivatização dos açúcares • Maior recuperação e precisão que GC • Permite a análise de hidratos de carbono de cadeia mais longa • Mais versátil que GC • Análises qualitativas e quantitativas • Analisa misturas complexas de mono- e dissacáridos 	<ul style="list-style-type: none"> • Requer filtração (micro-filtro) antes da injeção da amostra
GC	<ul style="list-style-type: none"> • Alta sensibilidade (maior que no HPLC) • Melhor aplicável a monómeros • Bom para encontrar hidratos de carbono desconhecidos • Análises qualitativas e quantitativas 	<ul style="list-style-type: none"> • Açúcares têm de ser convertidos a derivados voláteis • Fase de tratamento crítica para obter resultados precisos e exatos
Somogyi–Nelson	<ul style="list-style-type: none"> • Simples 	<ul style="list-style-type: none"> • Uso de reagentes corrosivos (ácido sulfúrico concentrado)
Sulfúrico-fenol	<ul style="list-style-type: none"> • Simples • Rápido • Sensível • Preciso • Específico para hidratos de carbono • Largamente aplicado • Reagentes baratos, acessíveis e estáveis • Permite a quantificação de todas as classes de açúcares • Resultados reprodutíveis 	<ul style="list-style-type: none"> • Uso de reagentes corrosivos (ácido sulfúrico concentrado) e cancerígenos (fenol)
DNS	<ul style="list-style-type: none"> • Simples 	<ul style="list-style-type: none"> • Só determina açúcares redutores
Volumétricos (Lane-Enyon)	<ul style="list-style-type: none"> • Simples 	<ul style="list-style-type: none"> • Suscetibilidade de interferência por outros agentes redutores • Condições de ensaio críticas para obtenção de bons resultados • Não seletivo • Só determina açúcares redutores
Gravimétricos (Munson-Walker)	<ul style="list-style-type: none"> • Mais reprodutível e preciso que método Lane-Enyon 	<ul style="list-style-type: none"> • Suscetibilidade de interferência por outros agentes redutores • Não seletivo • Só determina açúcares redutores

4. Determinação de água

Existem vários métodos para determinar a humidade nos alimentos. A escolha do método depende essencialmente da forma como a água está presente na amostra, da natureza da amostra, da quantidade relativa de água, da rapidez desejada na determinação e do equipamento disponível.

O processo de remoção de água é normalmente efetuado através de processos de aquecimento, por gravimetria direta, ou seja, o cálculo da diferença entre o peso da amostra antes e após o processo de secagem. São métodos que requerem um longo tempo de secagem, mas muito fiáveis e baratos, sendo aplicados em grande parte dos métodos oficiais de determinação de água em alimentos (88,93). No entanto, estes não devem ter elevada quantidade de compostos voláteis, cuja perda durante a secagem favorecerá a perda de massa e a sobrestimação de teores de água. Outras opções de secagem diretas, mas menos utilizadas, são a secagem por infravermelhos e o doseamento pelo método de Karl Fischer (88,93).

Nos métodos de desidratação dos alimentos, nomeadamente dos caracóis, destacam-se a secagem convencional e clássica por meio de equipamentos de temperatura controlada, nomeadamente a secagem por estufa (Tabela 8). Os tipos de estufa podem variar, assim como as condições de secagem, que podem por exemplo realizar-se apenas por secagem do ar ou a vácuo. O princípio do método consiste na secagem a cerca de 100 °C para o calor atingir as porções mais internas do alimento, até peso constante, para que ocorra a evaporação de toda a água volatilizável do alimento, sendo essa porção determinada através da diferença de massa registada entre a amostra seca e a amostra original. Para auxiliar o processo, pode ser utilizada areia do mar tratada e os alimentos devem ser moídos para facilitar a evaporação da água (88,93). A evaporação por um tempo determinado pode resultar numa remoção incompleta da água, se ela estiver fortemente presa por forças de hidratação, ou se o seu movimento for impedido por baixa difusividade ou formação de crosta na superfície. Por outro lado, na evaporação até peso constante, pode ocorrer uma sobrestimação da humidade por perda de substâncias voláteis ou por reações de decomposição (88,93).

Outra opção considerada para a remoção de água em caracóis são os liofilizadores (Tabela 13). A liofilização baseia-se na remoção de água no produto congelado, por sublimação a alto vácuo, que irá alterar o ponto de vaporização da água. Este processo

é, no entanto, extremamente dispendioso e mais complexo e minucioso, pelo que é pouco utilizado para a caracterização nutricional (88).

Tabela 13 – Diferentes estudos de determinação de teor de água em caracóis terrestres.

Espécie estudada	Metodologia	Água (%)	Ref.
<i>Helix aspersa</i>	Gravimetria	82,5	(14)
<i>Helix aspersa maxima</i>	Gravimetria	77,5 – 79,9	(92)
<i>Helix aspersa aspersa</i>	Liofilização	87,4	(48)
<i>Helix pomatia</i>		83,7	
		84,2	
	AOAC 1990	80,8	(51)
<i>Helix lucorum</i>	Liofilização	84,0	(48)
<i>Ceruella virgata</i>	Gravimetria (BAS ISO 1442)	77,3 – 79,1	(16)
<i>Archachatina marginata</i>	AOAC (2005)	73,7	(50)
<i>Achatina achatina</i>		75,3	
<i>Achatina fulica</i>		79,3	

5. Determinação de cinzas

A cinza dos alimentos representa o seu teor em minerais, podendo ser o primeiro procedimento para análises subsequentes de caracterização desses respetivos minerais.

O princípio dos métodos oficiais de obtenção de cinza consiste na destruição e remoção da matéria orgânica presente na matriz alimentar, de modo a quantificar-se o resíduo inorgânico remanescente e que constitui a fração mineral do alimento, podendo ocorrer em quantidades mais ou menos abundantes ou residuais, e em formas elementares ou compostas, como por exemplo em sulfatos, óxidos, fosfatos, cloretos ou silicatos,

dependendo das condições de incineração realizadas e da composição do alimento (88,91,93).

O método mais utilizado nos caracóis é a gravimetria por calcinação seca (Tabela 14) efetuada em mufla, em vez da calcinação húmida que é realizada através da utilização de ácidos oxidantes (88).

Tabela 14 – Diferentes estudos de determinação de teor de cinzas totais em caracóis terrestres.

Espécie estudada	Metodologia	Cinza total (%)	Ref.
<i>Helix aspersa</i>	Gravimetria (AOAC 938.08)	1,1	(14)
<i>Helix aspersa maxima</i>	Gravimetria	0,7 – 0,9	(92)
<i>Helix aspersa aspersa</i>	Gravimetria	1,1	(48)
<i>Helix pomatia</i>		1,5	
		1,8	
	AOAC (1990)	1,9	(51)
<i>Helix lucorum</i>	Gravimetria	1,4	(48)
<i>Ceruella virgata</i>	Gravimetria (BAS ISO 936)	2,0 – 2,5	(16)
<i>Archachatina marginata</i>	AOAC (2005)	2,6	(50)
<i>Achatina achatina</i>		1,8	
<i>Achatina fulica</i>		2,3	

6. Determinação de minerais

Existe uma grande variedade de métodos aplicados para a determinação de minerais, sendo a escolha do método influenciada principalmente pelo tipo de mineral a quantificar e a sua concentração no alimento. As metodologias clássicas oficiais mais utilizadas na

determinação de minerais englobam maioritariamente a quantificação colorimétrica, mas também por volumetria de complexação de iões minerais, nomeadamente o método com EDTA (88,93). No entanto, estas análises convencionais têm vindo a ser substituídas por métodos espectroscópicos mais modernos (88).

Para a carne de caracol ainda são aplicadas metodologias clássicas para alguns dos minerais em maior concentração, como por exemplo a volumetria de complexação para a quantificação de cálcio (Tabela 15). No entanto, a tendência estabelece-se na adoção dos métodos instrumentais de espectrometria mais sensíveis, muitas vezes para a quantificação nutricional geral de vários elementos minerais presentes no caracol (Tabela 15).

A espectrometria abrange um grande leque de métodos de diferentes sensibilidades e características, mas as principais análises para macrominerais em caracóis realizam-se por espectrometria de absorção atômica (AAS, *Atomic absorption spectrometry*) ou espectrofotometria de absorção molecular UV-VIS, nomeadamente para o fósforo (Tabela 10). O fósforo é um dos minerais em que a análise por espectrofotometria de absorção molecular é predominante, dado que as bandas de ressonância para este elemento estão em regiões mais baixas (entre 167,2 e 178,8 nm) que não são normalmente utilizadas nos equipamentos de espectrometria de absorção atômica, e por isso será mais suscetível a perdas antes do processo de atomização, nomeadamente na forma de sub-óxidos ou dímeros (103).

Na espectrofotometria de absorção molecular, o princípio do método baseia-se na medição da absorção da radiação visível de uma solução corada em função da concentração do analito presente (88). Nos intervalos de linearidade adequados, concordantes com a lei de Lambert-Beer, é possível traçar uma curva de calibração da concentração de analito em função das absorvências obtidas no comprimento de onda de maior absorção do composto a quantificar, calculando-se depois as concentrações nas amostras por interpolação gráfica (88,93).

Tabela 15 – Diferentes estudos de determinação de minerais em caracóis terrestres.

Espécie estudada	Metodologia	Mineral	Concentração (mg/100g)	Ref.
<i>Helix aspersa</i>	ICP-MS	Fe	0,52	(14)
		Ca	136	
		Mg	17,1	
		P	96,7	
		Na	92,0	
		K	105	
<i>Helix aspersa maxima</i>	FAAS	Zn	2,03	(30)
<i>Helix aspersa aspersa</i>			2,09	
			1,49 – 3,71	
<i>Helix pomatia</i>	AAS (AOAC, 1995)	Na	90,5	(51)
		Ca	726	
		K	82,2	
		Mg	54,1	
		Zn	1,35	
		Fe	1,71	
		Mn	0,19	
	Espetrofotometria UV-VIS	P	105	
<i>Helix sp.</i>	AOAC (1990)	Ca	13,6	(47)
		Fe	3,2	
		Na	14,1	
		K	10,2	
	Colorimetria	P	10,2	
<i>Theba pisana</i>	ICP-AES	Ca	1900 – 3950 (p.s. *)	(59)
		K	710 – 860 (p.s. *)	
		Mg	320 – 390 (p.s. *)	
		P	890 – 1030 (p.s. *)	
		S	490 – 620 (p.s. *)	
<i>Cernuella virgata</i>	Complexometria (AOAC 971.27)	Ca	720 – 1720	(16)
	Espetrofotometria (AOAC 986.24)	P	130 – 140	
<i>Archachatina marginata</i> <i>Achatina achatina</i> <i>Achatina fulica</i>	AAS	Fe	1,30 – 2,29	(50)
		Mg	15,1 – 26,0	
	AAS	Ca	66,3 – 126	
	Espetrofotometria UV-VIS (método do vanadomolibdato)	P	14,8 – 23,0	

*p.s (peso seco)

As principais vantagens destes métodos são a boa sensibilidade e precisão que fornecem, a simplicidade das suas técnicas analíticas e o custo mais reduzido face a outros métodos espectrométricos (88). Como desvantagens principais, estão a interferência de outros metais nas medições e a necessidade comum do controlo de outros parâmetros como a oxidação e o pH, que são importantes para que as reações no ensaio ocorram adequadamente (88).

As principais diferenças entre a espectrofotometria de absorção molecular UV-VIS e a espectrometria de absorção atómica (AAS) é que a primeira é geralmente economicamente mais acessível, mais simples na preparação da amostra e mais rápida na análise. No entanto, a AAS apresenta maior precisão e especificidade.

Para elementos específicos e recorrendo a métodos seletivos, a espectrofotometria de absorção molecular é recorrentemente usada mesmo para microelementos. No entanto, em caracterizações mais abrangentes ou dada a quantificação de elementos minerais vestigiais, as técnicas privilegiadas variam entre a espectrofotometria de absorção atómica por chama (FAAS) ou com forno de grafite (GFAAS), espectrometria de emissão atómica por plasma acoplado indutivamente (ICP-AES) e a espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) (88,93) (Tabela 15).

Através da comparação dos métodos mais utilizados entre a grande variabilidade de metodologias espectrométricas aplicáveis à determinação de minerais nos caracóis, são demonstrados alguns critérios que podem motivar diferentes escolhas (104–106) (Tabela 16).

Apesar de serem todas aplicáveis na determinação de elementos minerais, algumas especificações de cada uma das técnicas diferem de fonte para fonte, pelo que se torna importante conhecer as especificidades de cada metodologia e verificar a sua aplicabilidade em cada tipo de equipamento e alimento a analisar.

Tabela 16 – Comparação entre métodos sensíveis mais utilizados para a determinação de minerais em caracóis.

	FAAS	GFAAS	ICP-AES	ICP-MS
Custos	Moderado (+)	Moderado - Alto (++)	Alto (+++)	Muito alto (++++)
Velocidade de análise	10-15 s / elemento	3-4 min. / elemento	1 a 60 elementos em < 3 min.	73 elementos em < 3 min.
Elementos aplicáveis	+ 68	+ 50	73	+ 73
LD	≈ 1 – 1000 µg/L	≈ 0,01 – 1 µg/L	≈ 0,1 – 100 µg/L	< 1 µg/L
Volume de amostra	Elevado	Muito baixo	Médio	Muito baixo - Médio
Principais interferências	Químicas e físicas (Efeito de matriz)	Químicas (Efeito de matriz)	Espetrais	Químicas e físicas (Efeito de matriz)

6.1. Espectrofotometria de absorção atômica por chama (FAAS)

A espectrofotometria de absorção atômica por chama (FAAS, *Flame atomic absorption spectrometry*) é uma das formas de AAS, em que a solução amostra é aspirada por chama para o nebulizador, onde o solvente é evaporado. Depois, a amostra restante com o analito a quantificar é atomizada para absorver radiação (88,93).

A espectrofotometria de absorção atômica por chama é uma técnica aplicada a soluções, amplamente utilizada para a determinação de uma grande variedade de minerais e metais em concentrações na ordem dos mg/L. Este método é aplicado na análise de cerca de 68 elementos (106). Para a maioria dos elementos, as temperaturas de atomização são suficientes, sendo um processo eficiente para alcalo-metals, para muitos dos metais pesados, e metais de transição (105,106). No entanto, a temperatura de atomização máxima alcançada pode não ser suficiente para induzir a atomização completa de alguns

elementos da amostra, como por exemplo, o arsénio, o molibdénio, o vanádio, o boro ou o zircónio (106,107).

As análises produzidas pela FAAS são rápidas e de muito boa repetibilidade. As suas interferências intermédias, tais como a interferência do ruído de fundo provocada pela dispersão de luz por partículas na chama, podem ser facilmente controladas, por exemplo, pela utilização de uma lâmpada de deutério (106,107). As interferências de matriz devem-se muitas vezes à viscosidade da amostra ou à produção de iões indesejados. Também a baixa volatilização de alguns elementos pode complicar o processo de análise (104,107). É também um método relativamente barato, principalmente considerando os restantes métodos espectroscópicos usados para a quantificação de metais e minerais (104,106).

Na seleção deste método para a determinação dos vários elementos na amostra teve-se em consideração as suas vantagens e desvantagens (104–106), as quais estão representadas na Tabela 17.

Tabela 17 – Principais vantagens e desvantagens da FAAS na análise de minerais e metais.

Vantagens	Desvantagens
Custo relativamente baixo	Limites de deteção moderados
Muito rápido	Limitado para diversos elementos (As, Mo, V, B, Zr)
Fácil de usar	Não permite fazer varrimento espectral
Bom desempenho	

6.2. Espectrofotometria de absorção atómica com forno de grafite (GFAAS)

Nesta segunda forma de AAS, espectrofotometria de absorção atómica com forno de grafite (GFAAS, *graphite furnace atomic absorption spectrometry*), a amostra é injetada num tubo de grafite aquecido eletricamente, que irá gerar um vapor atómico. As etapas dentro deste equipamento são: secagem, pirólise e a atomização (88,93).

Este método pode ser aplicado a amostras no estado líquido, sólido ou em suspensão (106,107). O tempo e a temperatura obtidos nesta técnica determinarão a sua precisão e exatidão. A sua sensibilidade é cerca de 100 a 1000 vezes superior à da FAAS, mas é mais demorado e mais dispendioso (104,107). Os volumes de amostra utilizados são muito pequenos, entre 10 µL e 20 µL, e mais baixos do que os utilizados na FAAS (104,107). No entanto, pode sofrer maiores interferências que outros métodos (104,107).

A sua elevada sensibilidade deve-se à adição de substâncias modificadoras da matriz, misturadas com a amostra antes do processo de atomização, que permitem estabilizar o analito e tornar a matriz alimentar mais volátil (107). O método é aplicável a mais de 50 elementos (106). A determinação de alguns elementos refratários, tal como no FAAS, também pode ser limitada, mesmo utilizando a GFAAS (106).

As principais vantagens e desvantagens (104,106,107) deste método são sumarizadas na Tabela 18.

Tabela 18 – Principais vantagens e desvantagens da GFAAS na análise de minerais e metais.

Vantagens	Desvantagens
Alta sensibilidade e muito bons limites de deteção	Gama de trabalho limitada
Boa exatidão e precisão	Análise mais lenta
Permite analisar amostras sólidas	Algumas interferências químicas
Baixo volume de amostra	Limitação de alguns elementos
Custo moderado	Não permite análises por varrimento
Poucas interferências espectrais	

6.3. Espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-AES)

Na espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente, ICP-AES (*inductively coupled plasma - atomic emission spectrometry*), os átomos são excitados em

plasma de ar gerado por um campo eletromagnético de alta frequência. É medida a radiação dos átomos em estudo que foram excitados. A técnica de introdução da amostra mais recorrente neste método analítico é a nebulização (88,104).

Este método oferece uma elevada sensibilidade e é linear para uma ampla gama de concentrações. Além de permitir a análise múltipla sequencial, também permite a quantificação multi-elementar, mesmo em elementos geralmente mais difíceis de quantificar (105–107). É aplicável a cerca de 73 elementos e a vários tipos de amostra (106). Através desta metodologia até os elementos de maior refratibilidade e de difícil atomização são atomizados com elevada eficiência (106). No entanto, as amostras têm de ser introduzidas no equipamento na forma líquida ou gasosa, pelo que as amostras sólidas requerem normalmente uma hidrólise ácida prévia (106,107).

O custo elevado, uma das suas principais desvantagens (Tabela 19), deve-se principalmente ao elevado consumo de ar ou azoto (104,106,107).

Tabela 19 – Principais vantagens e desvantagens da ICP-AES na análise de minerais e metais.

Vantagens	Desvantagens
Fácil de usar	Limites de deteção moderados
Permite análises multi-elementares simultâneas	Possibilidade de interferências espectrais
Poucas interferências químicas	Custo mais elevado
Permite análise de amostras sólidas e orgânicas	Possível interferência de outros elementos
Boa precisão e exatidão	
Ampla utilização	

6.4. Espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente (ICP-MS)

A espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente, ICP-MS (*inductively coupled plasma mass spectrometry*), combina a capacidade de análises múltiplas e simultâneas do ICP-AES com limites muito baixos de deteção como no GFAAS. Recorre

à espectrometria de massa para detetar e quantificar os elementos, previamente ionizados pelo plasma de árgon com elevada energia (88,104). A técnica de introdução da amostra mais recorrente nesta metodologia é a nebulização (104). As amostras são introduzidas no plasma em aerossol ou na forma gasosa, pelo que é necessário que as amostras líquidas sejam nebulizadas (107).

O ICP-MS é uma das técnicas mais versáteis e úteis na determinação de elementos vestigiais, e também permite a disponibilização de informação isotópica dos elementos analisados (107). Tal como no ICP-AES, permite a quantificação multi-elementar da maioria dos elementos em diversas matrizes alimentares (106,107). Podem ser analisados por esta metodologia cerca de 82 elementos, sendo o método geralmente mais adequado para a pesquisa de elementos terrestres mais raros (106).

Apesar de algumas desvantagens, o ICP-MS é uma das metodologias instrumentais disponíveis com mais vantagens para a determinação simultânea de todos os minerais presentes nas amostras (104–107) (Tabela 20).

Tabela 20 – Principais vantagens e desvantagens da ICP-MS na análise de minerais e metais.

Vantagens	Desvantagens
Aplicável a quase todos os elementos	Mais caro
Elevada sensibilidade e limites de deteção muito baixos	Necessária alguma perícia para o desenvolvimento de algumas técnicas
Permite análises multi-elementares simultâneas	Algumas interferências espectrais
Gama de trabalho alargada	Limitada a amostras com baixos sólidos dissolvidos (< 0,4%)
Medições isotópicas	
Produz espectros de fácil interpretação	
Permite variações (LA ICP-MS* ou LC ICP-MS**)	
Baixas interferências de ruído de fundo	

*LA-ICP-MS (*laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry*)

**LC ICP-MS (*liquid chromatography–inductively coupled plasma–mass spectrometry*)

6.5. Determinação de metais pesados

A determinação de metais pesados nos alimentos inclui diversas metodologias, já descritas para a análise de minerais, já que muitos deles representam metais pesados. Ainda assim, a concentração de metais pesados em alimentos pode exigir a quantificação de níveis ainda mais residuais que os encontrados para os vários oligoelementos nutricionais (88). As técnicas usualmente empregues são a espectrofotometria de absorção atômica (AAS), espectrometria de emissão atômica por fluorescência, espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-AES), espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) e mais recentemente até análise por ativação com neutrões (NNA, *Neutron activation analysis*), fluorescência de raios X (XRF, *X-Ray Fluorescence*) ou a voltametria de redissolução anódica (ASV, *Anodic stripping voltammetry*) (107).

A técnica oficial da AOAC para a determinação de metais pesados em alimentos, nomeadamente arsénio, cádmio, chumbo e mercúrio, recorre à espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente (96). No caso específico de mercúrio no pescado, é também referida a espectrometria de absorção atômica por chama (FAAS) (96).

A determinação de vestígios de metais pesados em caracóis terá de ser também realizada com recurso a técnicas de elevada seletividade e sensibilidade que permitam quantificar concentrações vestigiais, tais como a espectrometria de absorção, de emissão atômica, e a espectroscopia de massa.

Nalguns estudos de caracóis, podemos observar que existem várias metodologias que permitem a quantificação de concentrações vestigiais de metais (Tabela 21). No entanto, é notória a escolha do ICP-MS ou GFAAS na pesquisa para alguns elementos presentes em concentrações mais baixas, de forma a garantir sensibilidades e limites de quantificação mais baixos.

Tabela 21 – Análise de metais em caracóis terrestres: espécie, método, metal(s) e concentração.

Espécie	Método	Metais	Concentração (mg/kg)	Ref.
<i>Helix aspersa</i>	ICP-MS	Sb	0,01 – 0,09	(61)
		As	0,07 – 0,36	
		Cd	0,50 – 0,92	
		Co	0,15 – 0,47	
		Cr	0,30 – 0,90	
		Mn	14,4 – 62,5	
		Hg	0,01	
		Ni	0,68 – 1,44	
		Pb	0,20 – 3,66	
		Cu	18,2 – 87,8	
		Se	0,07 – 0,70	
		Sn	0,11 – 0,19	
		Tl	0,02 – 0,14	
		U	0,02 – 0,17	
		V	0,27 – 1,64	
		Zn	27,5 – 81,1	
<i>Helix aspersa maxima</i>	FAAS	Cu	6,22	(30)
	GFAAS	Se	0,16	
<i>Helix aspersa aspersa</i>	FAAS	Cu	3,99	
	GFAAS	Se	0,19	
<i>Helix pomatia</i>	FAAS	Cu	4,82 – 29,4	(74)
	GFAAS	Se	0,04 – 0,14	
<i>Theba pisana</i>	FAAS	Cu	48,5 – 357 (p.s.*)	
		Zn	123 – 393 (p.s.*)	
		Cd	0	
		Pb	6,86 – 28,8 (p.s.*)	
	ICP-AES	As	21,5 – 92,1 (p.s.*)	(59)
		Cd	0,05 – 1,29 (p.s.*)	
		Cu	9,37 – 99,7 (p.s.*)	
		Pb	14,3 – 117 (p.s.*)	
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Archachatina marginata</i> • <i>Achatina achatina</i> • <i>Achatina fulica</i> 	AAS	Cu	0,70 – 10,3	(50)
<i>Achatina achatina</i>	AAS	Se	24,8 – 72,4	(15)
		Cr	40,8 – 857	
		As	0,21 – 0,81	
		Hg	< LD	

*p.s (peso seco)

7. Determinação de vitaminas

A quantificação das vitaminas requer quase sempre a sua extração das matrizes alimentares de forma a aumentar a sensibilidade dos métodos analíticos usados na sua quantificação. As técnicas de extração englobam geralmente sistemas de extração líquido-líquido ou sólido-líquido, bem como tratamentos ácidos, alcalinos, térmicos ou enzimáticos, dependendo do tipo de alimento e da(s) vitamina(s) em estudo (88,93). Alguns dos tratamentos da amostra incluem a extração com solventes orgânicos (vitaminas lipossolúveis), hidrólises ou extrações em ácidos e bases, desproteínização (defecação) (vitaminas hidrossolúveis) ou saponificação (lipovitaminas) (88,108).

A análise de compostos vitaminas, devido às suas características, podem ser particularmente vulneráveis à ocorrência de erros, quando comparadas às análises de outras substâncias. Algumas das maiores dificuldades na análise de vitaminas devem-se à grande facilidade de isomerização destes nutrientes, o que conduzirá a perdas de teores vitamínicos em condições de pH ou temperatura demasiado elevadas e em soluções de elevado potencial redox (108,109).

Devido à diversidade de métodos aplicados à quantificação de vitaminas citados na literatura e dado que organismos oficiais como a AOAC aplicam técnicas variadas, muito específicas a determinado alimento ou muito demoradas, torna-se difícil padronizar as metodologias de quantificação destes nutrientes (88,93).

Contudo, as análises a vitaminas podem dividir-se em três grandes grupos: bioensaios, ensaios microbiológicos (apenas para vitaminas hidrossolúveis) e ensaios físico-químicos (espectrofotometria, fluorometria, cromatografia, ensaios enzimáticos, imunológicos e radiométricos). Entre as metodologias convencionais, destacam-se os métodos químicos e biológicos. A maioria dos métodos químicos baseiam-se na derivatização das vitaminas de forma a gerar compostos corados quantificáveis (88,108,109).

Contudo, os métodos cromatográficos são os mais utilizados para a determinação de vitaminas na área alimentar, nomeadamente o HPLC. Além de ser adequado para a maioria das vitaminas hidrossolúveis e lipossolúveis, alia-se a sua simplicidade, exatidão e precisão (88,93). A combinação com a espectrometria de massa também se tem revelado útil para análises a vitaminas, particularmente em baixas concentrações, por oferecer uma maior sensibilidade e uma identificação e caracterização vitamínica mais precisa e exata. O HPLC é normalmente aplicado como metodologia oficial para as vitaminas A, D e E, e utilizado como método de controlo de qualidade para a vitamina C (88,109). Os detetores

cromatográficos mais usados são o UV-VIS (vitaminas lipossolúveis), de arranjo de díodos, ou de fluorescência (retinóis e tocoferóis), que são usados em conjugação com o HPLC, este último em especial para vitaminas do complexo B (88,109). Em compostos hidrofílicos utiliza-se bastante a coluna de fase reversa, enquanto para vitaminas lipofílicas como por exemplo a vitamina E, é usada a fase normal e reversa (88,108).

Também os métodos espectrofotométricos são uma das alternativas para a quantificação de vitaminas. Algumas das maiores preocupações a adotar nestes métodos de determinação de vitaminas são as interferências do oxigénio, da luz, da temperatura e das condições de acidez e alcalinidade que possam existir (88,109).

A pesquisa de vitaminas em caracóis terrestres não está muito explorada, havendo pouca informação relativa à quantificação destes nutrientes em caracóis terrestres e aos métodos mais utilizados para esta matriz específica.

Num estudo de Çağıltay *et al.* (14) para a espécie terrestre *Helix aspersa*, é usado o HPLC com detetor de UV para as vitaminas lipossolúveis A e E, e para as vitaminas B1 e B2 (Tabela 16). Para a vitamina B6 é utilizado um método espectrofotométrico (Tabela 16), indo de encontro com as principais metodologias usadas para a generalidade das matrizes alimentares. Nos métodos espectrofotométricos foi usado o agente de derivatização de Emmerie-Engel para as vitaminas (14) (Tabela 22).

Tabela 22 – Diferentes estudos de determinação de vitaminas em caracóis terrestres.

Espécie estudada	Metodologia	Vitaminas	Concentração(mg/100g)	Ref.
<i>Helix aspersa</i>	HPLC-UV (992.06 AOAC)	A	5,5	(14)
	HPLC-UV (992.03 AOAC)	E	0,9	
	HPLC (Finglas & Faulks, 1984)	B ₁	0,2	
		B ₂	0,1	
	Espectrofotometria (método Emmerie-Engel)	B ₃	3,2	
		B ₆	0,3	

Através da definição de vantagens e desvantagens dos dois métodos físico-químicos predominantes para a determinação de vitaminas (88,108,109), é possível comparar estas duas metodologias (Tabela 23).

Tabela 23 – Principais vantagens e desvantagens da determinação de vitaminas por HPLC e espectrofotometria.

Vantagens	Desvantagens
Cromatografia (HPLC)	
<ul style="list-style-type: none"> • A derivatização de substâncias não é obrigatória • Pode ser efetuada à temperatura ambiente • Aplicados a quase todas as vitaminas e também a vitâmeros • Demonstrado e aplicado para uma grande variedade de matrizes alimentares • Estudo de extratos vitamínicos na presença de isômeros, precursores ou produtos de degradação • Associação à espectrometria de massa, espectrometria de infravermelhos ou ressonância magnética • Quantificação simultânea • Elevada precisão, exatidão e sensibilidade 	<ul style="list-style-type: none"> • Matrizes alimentares variadas e complexas requerem diferentes pré-tratamentos • Diferentes condições de análise ideais em função do analito (tipo de coluna, eluente, sistemas de eluição, sistema de padronização, detetor...) • Demorado (muitas etapas de preparação) • Caro • Validação do método é particularmente importante para quantificações
Espectrofotometria	
<ul style="list-style-type: none"> • Rápido • Barato • Mais simples 	<ul style="list-style-type: none"> • Interferências intrínsecas do alimento • Interferências a que alguns agentes de derivatização estão sujeitos • Requerem normalmente separação da fração de interesse • Baixa estabilidade das vitaminas ou tempos de estabilidade pouco esclarecidos

8. Determinação de resíduos de pesticidas

Devido à sua presença vestigial, variabilidade físico-química, e interação com os constituintes alimentares, a análise de contaminantes alimentares solicita a realização de pré-tratamentos comuns como a trituração e/ou homogeneização, extração, limpeza,

clarificação (fracionamento, limpeza ou *clean-up*), concentração ou derivatização, bem como a utilização de equipamento de elevada seletividade, sensibilidade, e que permita quantificações bastante precisas e exatas (88,93).

A quantificação de pesticidas em alimentos pode englobar uma grande variedade de substâncias, pelo que é necessário ter em consideração as características individuais dos analitos, nomeadamente, a hidrofobicidade, volatilidade, estabilidade térmica ou reatividade química (88,93).

Os métodos de determinação em simultâneo (análises de multi-resíduos) dos vários pesticidas homologados são compilados no *Pesticide Analytical Manual I*, da agência federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos (FDA ou USFDA, *Food and Drug Administration*) (88). As metodologias cromatográficas são as mais utilizadas para a análise quantitativa de várias substâncias pesticidas, nomeadamente a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e a cromatografia gasosa (GC). Esta é também uma abordagem adotada pela AOAC para a quantificação dos pesticidas organoclorados e organofosforados em alimentos (88). O HPLC e o GC também são as metodologias mais utilizadas pela FDA e a USDA (88,93).

Apesar da sua facilidade de utilização, são necessárias algumas precauções nas análises deste tipo de compostos. No processo de extração e tratamentos pré-cromatográficos é importante assegurar a transferência de toda a fração de resíduos pesticidas contida no alimento para uma fase orgânica. De modo a aumentar a eficiência dessa transferência, é normalmente realizada uma repartição com um solvente miscível com água, que é seguida pela mistura e repartição com um solvente não polar miscível com solvente polares (sem ser água) (88). Após a extração, é necessário o processo de limpeza/clarificação, para minimizar efeitos de matriz e aumentar a seletividade e sensibilidade da quantificação. Os processos de clarificação envolvem o uso de técnicas de colunas de adsorção, em particular silicatos de magnésio, alumina e géis de sílica, juntamente com solventes de baixa polaridade para a eluição (88). Outra alternativa é o uso de cartuchos de extração em fase sólida (*SPE cartridges*), com diferentes fases poliméricas, seletivas para cada pesticida ou classe de pesticidas existentes na amostra (88).

Comparando os dois tipos de cromatografia (HPLC e GC) (Tabela 24), a GC fornece melhor eficiência de separação dos resíduos pesticidas e é normalmente acoplada a sistemas de deteção mais seletivos. A maior facilidade em acoplar sistemas de

espetrometria de massa à técnica de GC ou em obter equipamentos que abrangem simultaneamente estas duas metodologias, constitui uma grande vantagem da cromatografia gasosa em relação ao sistema HPLC para a análise de multi-resíduos de pesticidas em concentrações vestigiais, ainda que seja necessário derivatizar os compostos polares através desta metodologia (88). A GC é geralmente escolhida como o método preferencial para determinar resíduos de pesticidas estáveis do ponto de vista térmico e volátil, como os pesticidas organoclorados e organofosforados (88).

No entanto, alguns resíduos de pesticidas polares, de cadeia longa e/ou termolábeis podem apresentar dificuldades de volatilização e são analisados por HPLC, normalmente acoplado a um sistema de detecção por espetrometria de massa (88). Os avanços nesta metodologia permitem já obter facilmente resultados diretos, seletivos e sensíveis para esses compostos polares (88,93).

A escolha dos detetores e colunas depende da natureza dos pesticidas a analisar. Para a análise multiresidual de pesticidas por GC é frequentemente utilizada uma fase estacionária de 5% bifenilo e 95% dimetil polissiloxano (88). Por conterem normalmente heteroátomos na sua constituição, são muitas vezes utilizados detetores seletivos aos elementos, como o detetor fotométrico de chama para compostos com fósforo (organofosforados) e o detetor de captura de elétrons para os compostos com átomos eletronegativos (organoclorados) (88). No uso de GC convencional com detetor de ionização de chama (FID, *flame ionization detector*), torna-se necessário proceder a sucessivas injeções e a identificação dos compostos é muito dependente do tempo de retenção de cada analito, que não poderá ser uma confirmação absoluta devido às interferências de matriz. Estas limitações podem ser minimizadas ou ultrapassadas pela utilização de colunas de diferente seletividade ou recorrendo a detetores seletivos, como o espectrómetro de massa (88).

No HPLC são preferencialmente analisados pesticidas termicamente instáveis, de baixa volatilidade e maior polaridade, onde se incluem os carbamatos ou uretanos (*Aldicarb*, *Carbofuran*), a feniltioureia e benzimidazóis. Estes compostos são normalmente analisados em colunas C18 ou C8 de fase reversa, e uma fase móvel aquosa (88). Os detetores mais comuns são o detetor de absorção UV (herbicidas de ureia), o detetor de arranjo de díodos, de fluorescência (fungicidas benzimidazóis) ou a espetrometria de massa. Alguns compostos, como os carbamatos de metilo, podem necessitar de uma fase de derivatização pós-coluna para a sua detecção, o que exige um equipamento específico (88). Em alimentos complexos e no HPLC convencional, as determinações por UV-VIS,

fluorescência e até de arranjo de díodos podem não se mostrar suficientemente específicas e adequadas, pelo que o acoplamento da espectrometria de massa é muito importante para alargar consideravelmente a aplicabilidade do HPLC para a quantificação de resíduos pesticidas, nomeadamente para compostos polares, iónicos e termolábeis (88).

Tabela 24 – Principais vantagens e desvantagens da quantificação de vitaminas por HPLC e GC.

Vantagens	Desvantagens
GC	
<ul style="list-style-type: none"> • Melhor eficiência de separação • Mais facilmente acoplado a sistemas de deteção mais seletivos • Mais adequado para resíduos estáveis (organoclorados, organofosforados...) 	<ul style="list-style-type: none"> • Necessidade de derivatizar compostos polares • Necessidade de proceder a sucessivas injeções, pela substituição de detetores (método convencional) • Identificação de compostos é muito dependente do tempo de retenção da amostra (método convencional)
HPLC	
<ul style="list-style-type: none"> • Mais adequado para resíduos termicamente instáveis, de baixa volatilidade e maior polaridade • Resultados diretos, seletivos e sensíveis 	<ul style="list-style-type: none"> • Eventual necessidade de instalar câmaras de mistura e reatores para derivatizar compostos antes da deteção • Eventual dificuldade de deteção em matrizes complexas sem auxílio à espectrometria de massa (método convencional)

A pesquisa e quantificação de resíduos pesticidas em caracóis variará também essencialmente entre estes dois métodos, com base nos compostos analisados. Através da informação disponível na literatura, é possível observar a utilização da cromatografia líquida de alta eficiência para a determinação de glifosato e o seu metabolito ácido aminometilfosfónico (AMPA), e a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa para a quantificação dos fungicidas cimoxanil, folpete, tebuconazol e piraclostrobina em caracóis *Helix aspersa aspersa* (Tabela 25).

Tabela 25 – Diferentes estudos de determinação de pesticidas em caracóis terrestres.

Espécie	Método	Pesticidas	Concentração (mg/kg)	Ref.
<i>Helix aspersa aspersa</i>	HPLC	Glifosato	0,8 – 4,0	(65)
		AMPA	1,6 – 8,0	
	LC-MS/MS	Cimoxanil	< LQ	
		Folpete	< LQ	
		Tebuconazol	0,1 – 0,8	
		Piraclostrobina	< LQ – 0,7	

Capítulo III. Procedimento experimental

1. Equipamento e material

1.1. Equipamento

- Balança de precisão PCB, Kern
- Balança analítica AB204-S, $\pm 0,0005$, Mettler Toledo
- Banho de ultrassons, VWR
- Bomba de vácuo/pressão DOA-P730-BN, PALL Life Sciences
- Centrífuga 2K15, Sigma
- Condutivímetro
- Digestor Kjeldahl, Bloc digest 6, JP Selecta
- Destilador automático UDK 132 230V, VELP Scientifica
- Eléctrodo combinado de fluoretos, Thermo Fisher
- Espectrofotómetro U-2000 UV-Visível, Hitachi
- Estufa, Memmert
- Evaporador rotativo Laborota 4001, Heidolph
- Evaporador de solventes TurboVap LV, Biotage
- Manta de aquecimento Fibroman-C, J.P. Selecta
- Medidor portátil de condutividade, sólidos dissolvidos totais e salinidade com sonda de condutividade, Eutech
- Mufla, Heraeus Hanau
- Nefelómetro, Eutech
- Placa de agitação e aquecimento, Bibby Sterilin
- Placa de agitação e aquecimento digital 04644-Series, Cole Parmer Instrument Company
- Potenciómetro GLP22, equipado com eléctrodo combinado de vidro e sonda de compensação automática da temperatura, Crison
- Sistema de obtenção de água ultra-pura, sistema de osmose inversa, modelo Rios 16, Millipore
- Sistema de obtenção de água desmineralizada (condutividade $< 2 \mu\text{S/cm}$ @ 20°C), desionizador de leito misto, Desmiwater.
- Trituradora A320R1, Moulinex
- Vortex Reax 2000, Heidolph

1.1.1. Equipamento para a análise de pesticidas

- Coluna de separação cromatográfica Atlantis dC18 (2.1x150mm, 5µm), Waters
- Cromatógrafo HPLC 2795, Waters Alliance
- Espetrómetro de massa de triplo quadrupolo Quattro micro API, equipado com um ionizador de eletrospray, Micromasse e software de aquisição e tratamento de dados, Masslynx v. 4.0, 2002 (Micromass)

1.1.2. Equipamento para a análise de metais

- Espetrofotómetro de absorção atómica com amostrador automático, Perkin Elmer model 4110 ZL
- Espetrómetro de massa com plasma indutivo acoplado (ICP-MS), Thermo® XSeries II, equipado com amostrador automático CETAC® ASX-520
- Espetrómetro de emissão óptica com plasma acoplado (ICP-OES), Thermo Scientific, iCAP™ 7000 Series
- Digestor de micro-ondas, ETHOS® PLUS, Milestone, equipado com sonda de temperatura Milestone ATC-400, rotor RPR para 10 vasos de digestão e respetivos suportes, vasos de digestão em teflon para pressões até 100 bar e respetivas tampas, molas de segurança de espessura superior a 7 mm
- Bidestilador de ácidos DUOPUR®, Milestone
- Sistema de filtração DigiFILTER® Manifold, SCP Science
- Sistema de purificação de água Purelab® Ultra, ELGA

1.2. Material

O material de uso corrente de laboratório não é englobado nesta descrição, apenas serão enumerados os materiais de uso específico.

- Bureta 50 ± 0,05 mL
- Cadinhos de porcelana
- Cartucho para Soxhlet, 30 mm × 100 mm
- Cápsulas de porcelana
- Células de quartzo com percurso ótico de 1 cm

- Sistema para extração Soxhlet equipado com balão de fundo redondo de 500 mL, extrator de Soxhlet e condensador de 4 bolas
- Filtro de membrana de 0,45 µm, MF-Millipore
- Filtro de membrana de 1 µm, Whatman
- Filtro de seringa de 0,45 µm, Kinesis KX
- Micropipetas de 200 µL e 1000 µL, Gilson
- Micropipeta de volume fixo de 1000 µL, Finnpipette
- Papel de filtro qualitativo Ø 47 mm, Whatman
- Papel de filtro qualitativo Ø 240 mm, Filter-Lab
- Tubos Falcon de 50 mL, Labbox

2. Reagentes e soluções

2.1. Reagentes

No âmbito desta tese considerou-se como reagentes toda a substância ou solução que não foi preparada em laboratório. As soluções preparadas no laboratório são descritas na secção 2.2.

2.1.1. Gerais

- Acetato de amónio. ($\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$). $\geq 97\%$, Carlo Erba Reagents
- Acetato de sódio anidro (NaCH_3COO). $\geq 99\%$, PanReac Applichem
- Acetato de zinco bihidratado ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 99,9%, Merck
- Ácido 1-amino-2-naftol-4-sulfónico ($\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}_4\text{S}$), Fluka
- Ácido 1,2-ciclo-hexilenodiaminotetraacético (CDTA) ($\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_8$), 99%, Merck.
- Ácido acético glacial, (CH_3COOH), 99,8%, Chem-Lab
- Ácido ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$), 99%, PanReac Applichem ITW Reagents
- Ácido bórico (H_2BO_3), $\geq 99,8\%$, Chem-Lab
- Ácido clorídrico (HCl) concentrado puriss. *p.a.*, 37%, Honeywell Fluka
- Ácido glacial acético *p.a.* (CH_3COOH), 99,8%, Chem-Lab
- Ácido metafosfórico (H_3PO_4), 40-46%, Acros Organics
- Ácido nítrico (HNO_3) concentrado *p.a.*, 65%, Carlo Erba Reagents

- Ácido sulfúrico (H_2SO_4) puriss. *p.a.*, 95-97%, Honeywell Fluka
- Água desmineralizada
- Água ultra-pura
- Amoníaco (NH_3) a 25% *p.a.*, Merck
- Areia do mar lavada de grão fino (SiO_2), JMGS
- Azul de metileno ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{S}$), BDH Chemicals
- Cianeto de potássio (KCN), 97%, Merck
- Ciclohexanona ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}$), $\geq 99,94\%$, Fisher Chemical
- Cloreto de cálcio dihidratado ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), $> 99\%$, Riedel-de Haën
- Cloreto de Sódio (NaCl), 99,5%, PanReac Applichem
- Diclorometano (CH_2Cl_2) *RS*, $> 99,8\%$, Carlo Erba Reagents
- Etanol, 95%, aga
- 1,10-Fenantrolina monohidratada. ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), $\geq 99\%$, Carlo Erba Reagents
- L- Fenilalanina ($\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2$), 98,5%, Acros Organics
- Fenol cristalizado ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$), 99,5%, PanReac Applichem
- Hexacianoferrato (II) de potássio trihidratado ($\text{C}_6\text{FeK}_4\text{N}_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), $\geq 99,95\%$, Merck
- Hidrogenocarbonato de sódio, (NaHCO_3), 99,%, Merck.
- Hidróxido de potássio (KOH) lentilhas, *p.a.*, Merck
- Hidróxido de sódio (NaOH) lentilhas, *p.a.*, *eka*
- Hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$), $\geq 99\%$, Carlo Erba Reagents
- Kit clean-up AOAC 2007.01 para remoção de gorduras e ceras, Perkin Elmer
- Metanol (CH_3OH) *p.a.*, $\geq 99,8\%$, Riedel-de Haën
- Metavanadato de amónio (NH_4VO_3), $\geq 99,5\%$, Riedel-de Haën
- Murexida ($\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_6\text{O}_6$), *p.a.* Merck
- Nitrato de potássio (KNO_3), $> 99\%$, Carlo Erba Reagents
- Pastilha tampão indicadora para dureza (tampão + negro de ericromo T), Merck
- Pastilhas catalizadoras de cobre (6,25% em $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), PanReac AppliChem
- Sal sódico do 2,6-diclorofenol-indofenol ($\text{C}_{12}\text{H}_6\text{Cl}_2\text{NNaO}_2$), 90%, Riedel-de Haën.
- Sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), 99%, PanReacn AppliChem
- Sulfato de magnésio ($\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), $> 99,5\%$, Carlo Erba Reagents
- Vermelho de metilo ($\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$), Carlo Erba Reagents
- Xileno (C_8H_{10}), 99%, Fisher Chemical
- Zincon ($\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$), PanReac Applichem ITW Reagents

2.1.2. Padrões

Esta sub-seção apresenta as soluções titulantes e as soluções padrão controle utilizadas na monitorização dos vários parâmetros da qualidade dos caracóis e águas.

- Ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$), 99%, PanReac Applichem
- D-glucose anidra ($C_6H_{12}O_6$), 99,5%, Fisher Chemical
- Solução padrão de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0,5 M, Ampola Titrizol, Fluka
- Solução padrão de cálcio (Ca) AA, 1g/L, PanReac Applichem
- Solução padrão de formazina 4000 UNT, Hach Lange
- Solução padrão de EDTA ($C_{10}H_{16}N_2O_8$), 0,1 M, Ampola Titrizol, PanReac Applichem
- Solução padrão de ferro (Fe) AA, 1g/L, PanReac Applichem
- Solução padrão de fosfatos (PO_4^{3-}) *Certipur*, 1 g/L, Merck
- Solução padrão de fluoretos (F^-) SCS, 1 g/L, Eutech
- Solução padrão de zinco (Zn) AA, 1 g/L, PanReac Applichem
- Solução tampão pH = 4,00 @ 25 °C, Crison
- Solução tampão pH = 7,00 @ 25 °C, Crison
- Solução tampão pH = 4,00 @ 20 °C, Merck
- Solução tampão pH = 6,00 @ 20 °C, Fisher
- Solução tampão pH = 6,8 @ 20 °C, Carlo Erba Reagents

2.2. Soluções

As soluções são agrupadas por parâmetro para facilitar a consulta das mesmas.

2.2.1. Açúcares totais

- Solução de acetato de zinco (Solução II)
- Solução de ácido clorídrico, 1+3 (V/V)
- Solução de hexacianoferrato de potássio (Solução I)
- Solução de hidróxido de sódio (NaOH), 300 g/L
- Solução etanólica de hidróxido de potássio
- Solução fenólica a 5% (m/V)
- Solução padrão de D-glucose ($C_6H_{12}O_6$), 100 mg/L

- Soluções padrão de controlo de D-glucose ($C_6H_{12}O_6$), 3 mg/L e 80 mg/L

2.2.2. Cálcio e magnésio

- Solução de ácido clorídrico, 1+3 (V/V)
- Solução de hidróxido de sódio, 6N
- Solução titulante de EDTA 0,01 M
- Solução padrão de controlo de cálcio (Ca), 10 mg/L
- Solução padrão de controlo para a dureza ($CaCO_3$), 608 mg/L
- Soluções padrão de controlo de carbonato de cálcio ($CaCO_3$), 9,7 mg/L e 24mg/L

2.2.3. Ferro

- Solução de ácido clorídrico, 1+3 (V/V)
- Solução de acetato de sódio
- Solução de hidroxilamina a 10% (m/V)
- Solução de o-fenantrolina
- Solução tampão de acetato de amónio (pH \approx 2)
- Solução padrão de ferro (Fe), 100 mg/L
- Solução padrão de controlo de ferro (Fe), 2,5 mg/L (controlo 50 μ g)

2.2.4. Fluoretos

- Solução padrão de fluoretos (F^-), 10 mg/L
- Solução tampão de ajuste da força iónica, TISAB (pH = 5,3 – 5,5)
- Solução de hidróxido de sódio, 6 N
- Soluções padrão de controlo de fluoretos (F^-), 0,06 mg/L, 0,1 mg/L, 1,0 mg/L

2.2.5. Fósforo

- Solução de ácido clorídrico, 1+3 (V/V)
- Solução de molibdato de amónio de vanádio
- Solução padrão de fósforo (P), 50 mg/L
- Solução padrão de controlo de fósforo (P), 1,5 mg/L

2.2.6. Gordura total

- Solução de ácido clorídrico, 4N

2.2.7. Proteínas

- Solução de ácido bórico a 4 % (m/V)
- Solução de hidróxido de sódio a 40% (m/V)
- Solução indicadora de vermelho de metilo/azul de metileno
- Solução titulante de ácido sulfúrico, 0,1 N/10
- Padrão de controlo fenilalanina, 0,5 g (42,4 mg N)

2.2.8. Metais

- Solução de ácido nítrico, 1+3 (V/V)

2.2.9. Pesticidas

- Metanol 10% (V/V)

2.2.10. Vitamina C

- Solução de 2,6-diclorofenol-indofenol
- Solução tampão de acetato de sódio/ácido acético (pH = 4,3)
- Solução de ácido metafosfórico a 3% (m/V)
- Solução de ácido metafosfórico a 6% (m/V)
- Solução padrão de ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$), 3 mg/L
- Soluções de padrão de controlo de ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$), 0,3 mg/L e 1 mg/L

2.2.11. Zinco

- Solução corante Zincon
- Solução de ácido clorídrico, 1+3 (V/V)
- Solução de cianeto de potássio
- Solução de hidróxido de sódio, 6N
- Solução tampão de hidróxido de sódio e ácido bórico (pH = 9)
- Solução padrão de zinco (Zn), 100 mg/L
- Soluções padrão de controlo de zinco (Zn), 0,4 mg/L e 4 mg/L

3. Amostras

Os caracóis foram adquiridos a 21/09/2018 na loja *Casa dos caracóis* de Campolide. Da espécie *Theba pisana* (caracol) comprou-se 3 kg e da espécie *Otala lactea* (caracoleta riscada) 1 kg. Além dos caracóis vivos, também foram comprados cerca de 2 kg (*Theba pisana*) e 1 kg (*Otala lactea*) de caracóis confeccionados e prontos a consumir.

A Figura 20 apresenta as duas espécies de caracóis expostas na loja na altura da compra.

O pré-tratamento das amostras foi realizado no dia da compra dos caracóis. As águas de fervura dos caracóis (provenientes do laboratório) e as águas de confeção dos caracóis (dos caracóis confeccionados comprados) também foram analisadas.

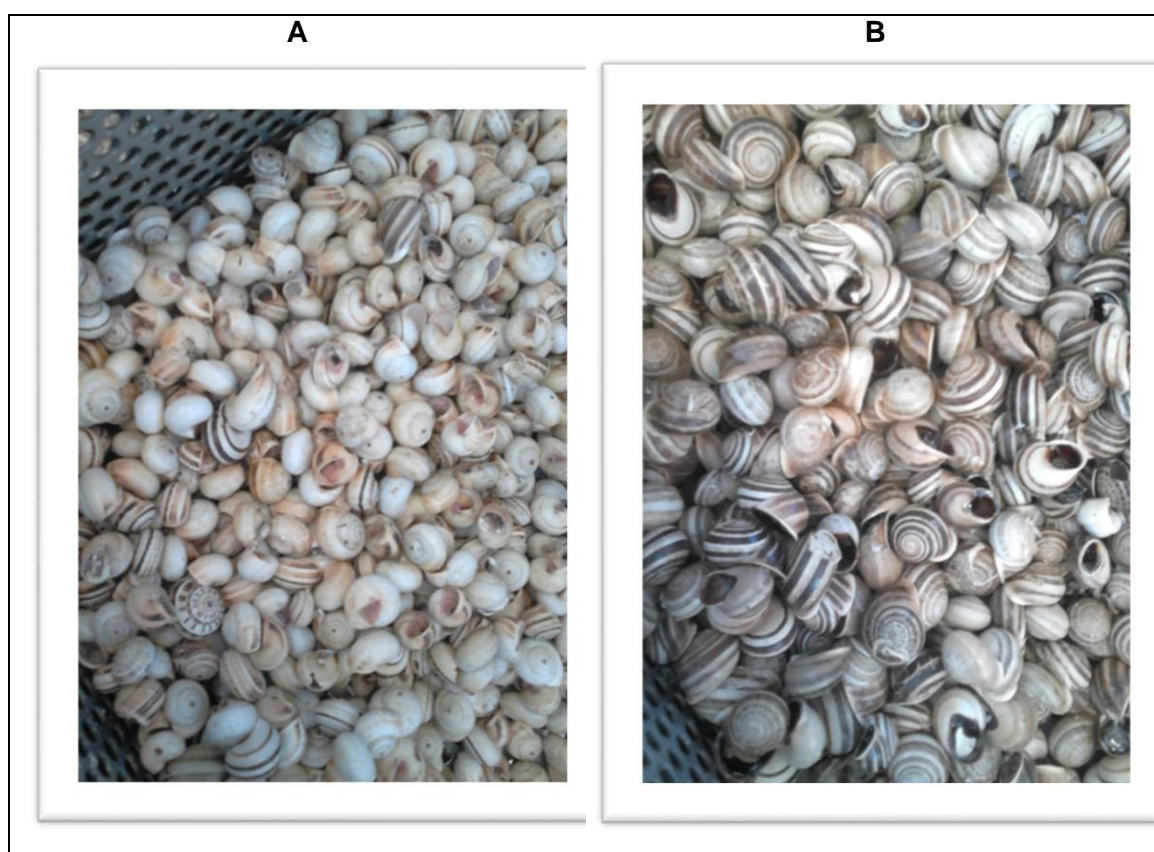


Figura 20 – Caracóis expostos na arca frigorífica na loja *Casa dos caracóis*: **A)** *Theba pisana* (caracol) e **B)** *Otala lactea* (caracoleta riscada)

4. Técnicas

4.1. Considerações gerais

As técnicas analíticas implementadas foram adaptadas de métodos oficiais previamente validados para a determinação de parâmetros nutricionais e físico-químicos em géneros alimentícios como os da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) (96) e os *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (SMEWW) (95). Também se utilizaram algumas normas internacionais, principalmente as da *International Standard Organization* (ISO) para o controlo da qualidade, as normas portuguesas (NP) e as Normas Europeias (EN) aplicadas à análise de alguns parâmetros, assim como vários artigos científicos pertinentes para as análises efetuadas.

Como a maioria das técnicas utilizadas já estão descritas, as seções seguintes apresentam resumidamente o fundamento do método, a toma de ensaio e as equações utilizadas para o cálculo dos vários parâmetros nutricionais.

Os vários parâmetros foram organizados por tipo de método analítico, independentemente da matriz (caracóis ou águas de fervura/cozedura).

4.2. Pré-tratamento da amostra

Independentemente do parâmetro a determinar e do método utilizado, as amostras de caracóis tiveram de sofrer pré-tratamento. A Figura 21 apresenta a sequência das várias fases de pré-tratamento dos caracóis crus.

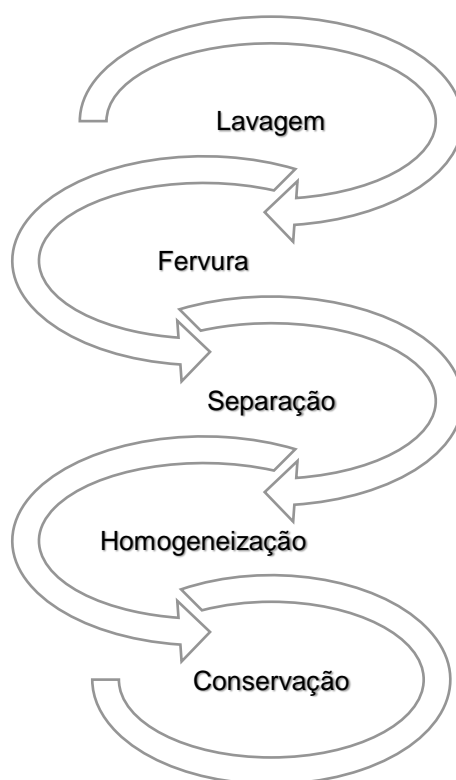


Figura 21 – Etapas do pré-tratamento das amostras de caracóis crus.

O pré-tratamento da amostra iniciou-se com a lavagem dos caracóis vivos através da sua imersão em água de consumo humano (água de abastecimento). A água de lavagem foi renovada várias vezes até se obter uma água de lavagem límpida e os caracóis começaram a circular pelo alguidar de lavagem. Durante este processo também foram

eliminadas cascas de animais mortos (que flutuam), ervas secas e outros resíduos, maioritariamente mucos secos.

Devido à consistência mole do corpo dos caracóis, não se consegue retirar a carne da concha sem haver uma prévia fervura, já que o corpo não pode ser extraído na sua totalidade (fragmentava-se) sem este processo. Deste modo, colocaram-se os caracóis em água em ebulição por um período de 10 – 15 min. Ao fim deste período, escorreram-se os caracóis, deixaram-se arrefecer e separaram-se as partes edíveis das respetivas conchas, com auxílio de um alfinete.

As partes edíveis obtidas foram depois trituradas e homogeneizadas com recurso a uma homogeneizadora/triturador de alimentos (1, 2, 3 da Molinex). Este processo de separação da parte edível e homogeneização também foi efetuado nos caracóis confeccionados.

A parte edível dos caracóis foi subdividida em tubos Falcon de 50 mL e em frações de 5 g, 10 g, 20 g, 30 g e 50 g. Estas amostras foram armazenadas a – 20 °C, até à sua utilização.

A maior parte das metodologias analíticas aplicadas requereram um processo prévio de digestão, filtração e dissolução da amostra em solução aquosa, bem como a clarificação e remoção dos potenciais interferentes, nalguns casos.

Para a determinação analítica dos minerais, o pré-tratamento (Figura 22) consistiu numa combustão e calcinação da amostra, adaptado do método 965.17 da AOAC (96), relativa à quantificação de fósforo em carne e produtos cárneos.

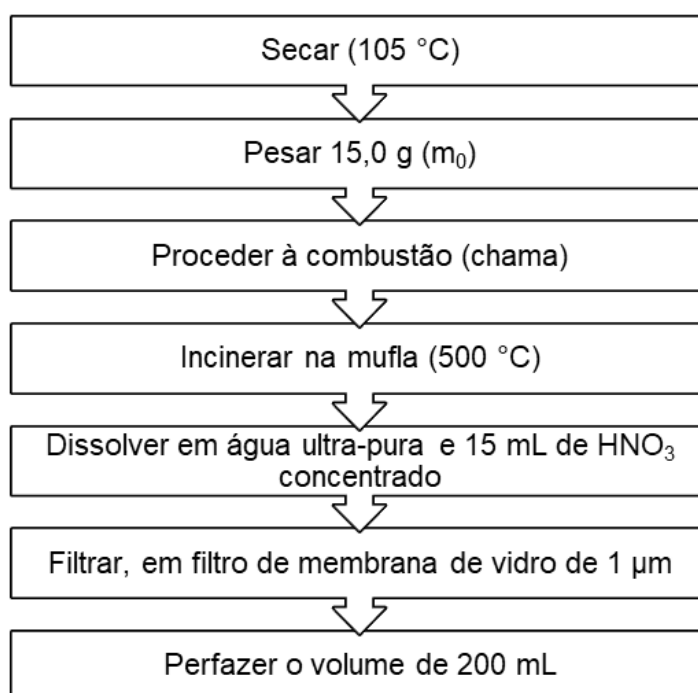


Figura 22 – Etapas de pré-tratamento da amostra para a determinação dos minerais.

Para a determinação de açúcares totais procedeu-se ao pré-tratamento da amostra segundo a NP 2245 (1985), “Carnes, derivados e produtos cárneos. Determinação do teor de amido” (110) (Figura 23). O método apresenta várias etapas, nomeadamente, extração, hidrólise, defecação e correção do pH.

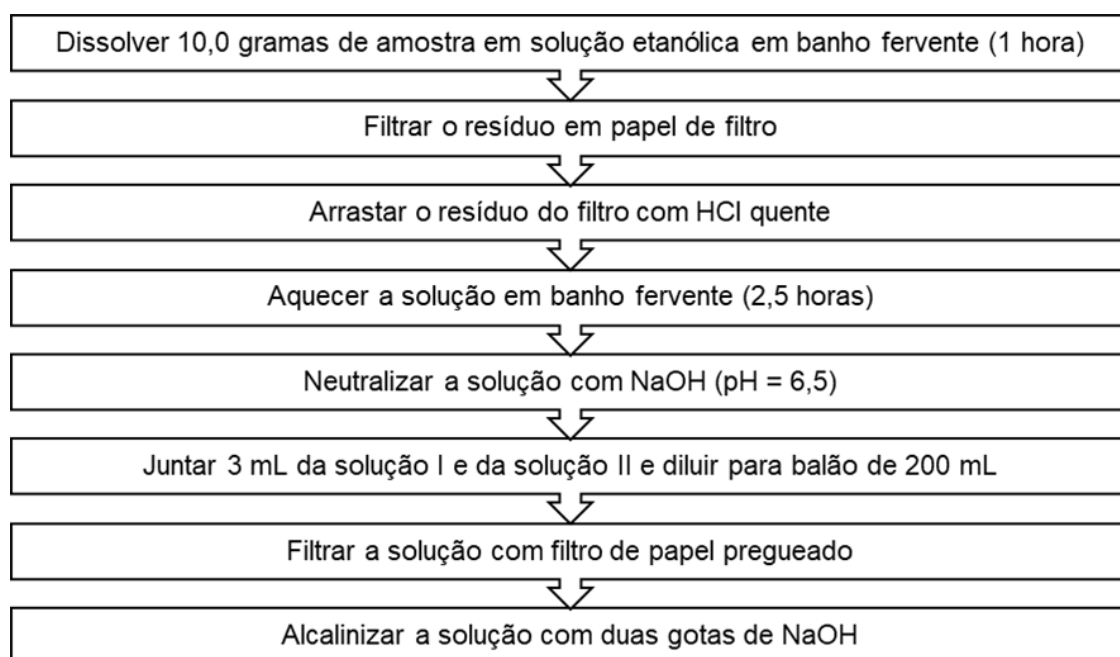


Figura 23 – Etapas do pré-tratamento das amostra para a quantificação de açúcares totais.

Para a análise de pesticidas por cromatografia líquida de alta eficiência procedeu-se a uma extração com solvente orgânico seguida de limpeza por extração em fase sólida dispersiva (dSPE). A Figura 24 apresenta as várias etapas do processo.

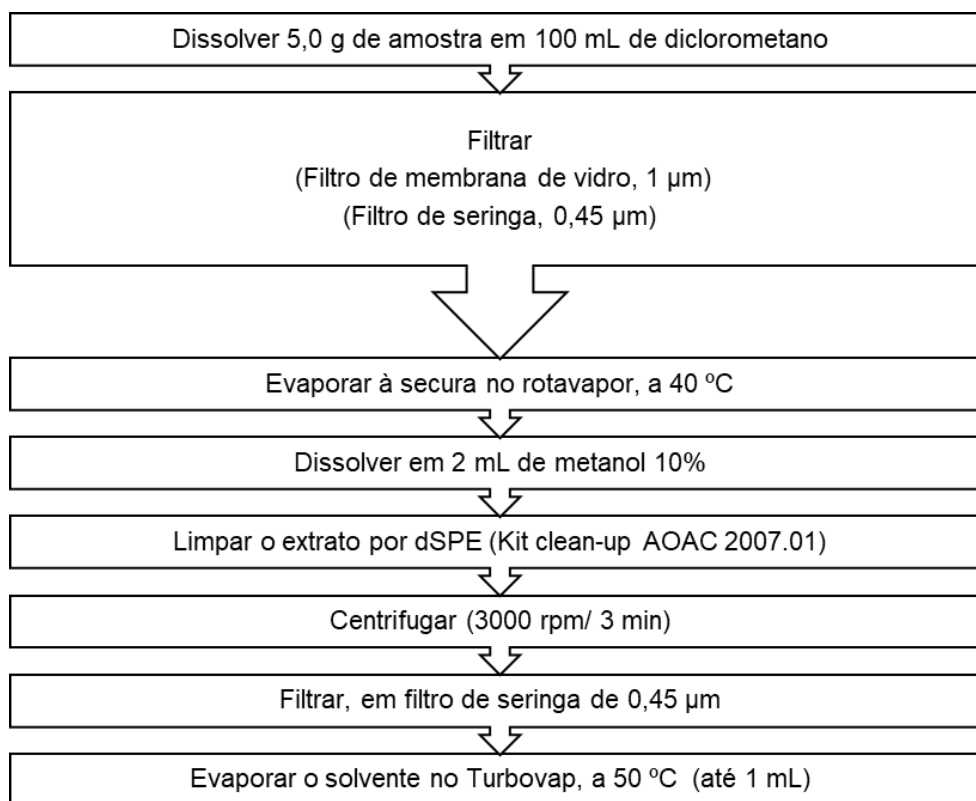


Figura 24 – Etapas do pré-tratamento das amostras de caracóis para a análise de resíduos pesticidas por HPLC-MS.

4.3. Métodos gravimétricos ou por cálculo

4.3.1. Cinza total

As cinzas dos caracóis foram determinadas pelo método gravimétrico a $550\text{ °C} \pm 10\text{ °C}$, da NP 1615 (2002) (111), o método de referência para a quantificação de cinza total em carnes.

O método consiste na destruição e eliminação da matéria orgânica presente na matriz alimentar por incineração, de modo a quantificar-se o resíduo inorgânico ou fração mineral do alimento.

Uma toma de amostra de 20 g ($\pm 0,01$ g) foi seca a 105 °C , carbonizada por chama e incinerada a 550 °C . O teor de cinza, expresso em g/100 g de produto fresco, é calculado pela equação 1:

$$\text{Cinza total (g/100 g)} = \frac{m_2 - m_c}{m_1} \times 100 \quad (1)$$

Onde,

m_c = Massa do cadinho previamente seco a 550 °C (g)

m_1 = Massa inicial da toma de amostra a analisar (g)

m_2 = Massa final do conjunto (amostra incinerada + cadinho) após a calcinação (g)

Analisaram-se 5 réplicas de cada amostra.

4.3.2. Hidratos de carbono totais

Os hidratos de carbono foram determinados por cálculo, subtraindo ao valor da matéria seca, o valor da matéria gorda, das proteínas e da cinza, de acordo com a equação 2:

$$\text{Hidratos de carbono (g/100 g)} = M - P - C - L \quad (2)$$

Em que,

M = Teor de matéria seca total obtido para o caracol (g/100 g)

P = Teor de proteína obtido para o caracol (g/100 g)

C = Teor de cinza obtido para o caracol (g/100 g)

L = Teor de matéria gorda total obtido para o caracol (g/100 g)

4.3.3. Matéria seca

A matéria seca e o teor de água foram determinados por secagem (103 ± 2 °C), de acordo com o método de referência da ISO 1442:1997 (112), relativo ao teor de humidade em carne e produtos cárneos.

O método baseia-se na secagem da amostra a uma temperatura suficiente a que ocorra a evaporação de toda a água volatilizável do alimento, a qual é quantificada pela diferença de massa entre a amostra seca e a amostra original. Para auxiliar o processo de evaporação utilizou-se areia de mar como agente dispersante. Secou-se cerca de 10 g de amostra a 105 °C, até massa constante. O teor de matéria seca, expresso em percentagem, é calculado pela equação 3:

$$\text{Matéria seca (\%)} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100 \quad (3)$$

Onde,

m_0 = Massa do conjunto (cápsula + areia + vareta) (g)

m_1 = Massa do conjunto (amostra + cápsula + areia + vareta) antes da secagem (g)

m_2 = Massa do conjunto (amostra + cápsula + areia + vareta) depois da secagem (g)

Para obter o teor de humidade ou teor de água (percentual), subtrai-se a 100 o valor de matéria seca obtido através da equação (3), ou calcula-se diretamente pela equação (3):

$$\text{Humidade (\%)} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100 \quad (4)$$

Analysaram-se 5 réplicas de cada amostra.

4.3.4. Matéria gorda total

O teor da matéria gorda total dos caracóis foi determinado segundo a norma portuguesa NP 1974 (1992) (113) para a determinação da matéria gorda total em pescado.

O método consiste numa hidrólise ácida para libertar a fração lipídica, a filtração e secagem da matéria gorda livre em filtro, e a posterior extração em solvente orgânico pelo método de Soxhlet. Após a eliminação do solvente por evaporação, a pesagem do extrato obtido permite determinar o teor de matéria gorda total no alimento.

Hidrolisaram-se 10 g ($\pm 0,01$ g) de amostra em ácido clorídrico, filtrou-se a amostra por filtro simples, secou-se, extraiu-se por Soxhlet com n-hexano, evaporou-se o solvente no rotavapor, secou-se a 105 °C em estufa e pesou-se a massa final contendo a fração lipídica.

O teor de matéria gorda total, expresso em g/100 g de produto fresco, é calculado através da seguinte fórmula (5):

$$\text{Matéria gorda (g/100 g)} = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100 \quad (5)$$

Em que,

m = Massa da toma para análise (g)

m₁ = Massa do balão de extração (g)

m₂ = Massa do balão de extração com a fração lipídica após secagem (g)

Analísaram-se 6 réplicas de cada amostra.

Para a determinação de matéria gorda nas amostras de água de fervura e cozedura foi utilizado o mesmo método, substituindo a extração por Soxhlet por uma extração líquido-líquido em ampolas de decantação após a etapa de hidrólise. A fase orgânica foi filtrada por lã de vidro e sulfato de sódio para remover alguma água remanescente.

Analísaram-se 3 réplicas de cada amostra.

4.4. Métodos volumétricos

4.4.1. Cálcio

Determinou-se o teor de cálcio nos caracóis por volumetria de complexação, por adaptação do método oficial para água e efluentes, SMEWW 4500-Ca (95) e o método para a determinação de cálcio em vegetais enlatados, método 968.31 da AOAC (96).

O cálcio é complexado com o EDTA. Nesta titulação, o EDTA combina-se com todo o cálcio disponível, uma vez que o pH é suficientemente alcalino (12 -13) para precipitar o magnésio, o interferente mais significativo deste doseamento. O indicador utilizado é a murexida, que é seletiva para o cálcio.

O ensaio foi realizado nas amostras de caracóis calcinadas e dissolvidas em ácido (Secção 4.2, Figura 22). A toma de ensaio foi de 10 mL de amostra, proveniente da solução pré-tratada dos caracóis (Secção 4.2, Figura 22). Analisaram-se 3 réplicas de cada amostra.

O teor de cálcio, expresso em mg/100 g de produto fresco, é determinado pela equação 6:

$$Ca \text{ (mg/100 g)} = \frac{n \times M \times 4008 \times Vi}{V \times m0} \quad (6)$$

Onde,

n = Volume de EDTA adicionado à amostra (mL)

M = Concentração do EDTA (M)

V = Volume de amostra em estudo (mL)

Vi = Volume de amostra inicial proveniente do pré-tratamento (mL)

m0 = Massa de caracol fresco utilizada para análise (g)

4.4.2. Magnésio

Para determinar o magnésio presente no caracol recorreu-se à norma ISO 2482:1973 para a determinação de magnésio e cálcio no cloreto de sódio de uso industrial (114), e ao procedimento oficial para a determinação da dureza da água e efluentes, SMEWW 3240 C (95) .

A volumetria de complexação com EDTA é semelhante à utilizada para a determinação do cálcio, alterando a toma de amostra de ensaio (5 mL), o pH ($\cong 10$) e o indicador (negro de eriocromo T). Analisaram-se 3 réplicas de cada amostra.

A dureza total das amostras, expressa em mg/100 g de produto fresco de carbonato de cálcio, é dada pela equação 7:

$$CaCO_3 \text{ (mg/100 g)} = \frac{n \times M \times 1000 \times V_i}{V \times m_0} \quad (7)$$

Em que,

n = Volume de EDTA adicionado à amostra (mL)

M = Concentração do EDTA (M)

V = Volume de amostra em estudo (mL)

V_i = Volume de amostra inicial proveniente do pré-tratamento (mL)

m_0 = Massa de caracol fresco utilizada para análise (g)

Apesar de ser expresso sob a forma de carbonato de cálcio, a dureza representa o teor de sais alcalino-terrosos na matriz, assim como de outros metais que poderão reagir com o EDTA. Portanto, terão de ser considerados outros constituintes para além do cálcio e do magnésio, nomeadamente, o manganês e o alumínio. Através dos resultados analíticos dos vários minerais e do cálculo da sua respetiva dureza (dureza cálcica, dureza mangânica e dureza alumínica), é possível, por diferença, determinar a dureza magnesiana e o teor de magnésio das amostras, em mg/100 g.

A dureza cálcica (ou de outro metal ajustado aos cálculos), em mg de $CaCO_3$ por 100 g de produto, é calculado pela equação 8:

$$DCa \text{ (mg CaCO}_3\text{/100 g)} = \frac{Ca \times MM_{CaCO_3}}{MM_{Ca}} \quad (8)$$

Em que,

Ca = Concentração de cálcio na amostra, calculada anteriormente (mg/100 g)

MM_{CaCO_3} = Massa molar do carbonato de cálcio (g/mol)

MM_{Ca} = Massa molar do cálcio (g/mol)

Obtém-se posteriormente o valor de dureza magnesiana pela subtração das durezas calculadas (segundo a equação 8) para os diferentes metais (Ca, Mn e Al), ao valor de dureza total obtido na equação 7. A expressão é demonstrada pela equação 9:

$$DMg \text{ (mg CaCO}_3\text{/100 g)} = D_{CaCO_3} - D_{Ca} - D_{Mn} - D_{Al} \dots \quad (9)$$

Em que,

D_{CaCO_3} = Dureza total (mg/100 g)

D_{Ca} = Dureza cálcica (mg/100 g)

D_{Mn} = Dureza mangânica (mg/100 g)

D_{Al} = Dureza alumínica (mg/100 g)

É possível obter a concentração de magnésio nos caracóis, em mg/100 g, pela equação 10:

$$Mg \text{ (mg/100 g)} = \frac{DMg \times MM_{Mg}}{MM_{CaCO_3}} \quad (10)$$

Em que,

MM_{Mg} = Massa molar do magnésio (g/mol)

4.4.3. Proteína

As proteínas foram determinadas pelo método macro Kjeldahl, NP 1612 (2006), relativa ao teor de azoto total em carne e derivados (115).

O método de Kjeldahl divide-se em grandes três etapas: mineralização da amostra, destilação e titulação. Na digestão da amostra ($2 \pm 0,01$ g) a altas temperaturas ($400\text{ }^{\circ}\text{C}$), os compostos de azoto orgânico são convertidos a sulfato de amónio por intermédio do ácido sulfúrico e na presença de um catalisador (cobre). O digerido é submetido a uma destilação por arrastamento de vapor com adição de uma base concentrada (NaOH 40%), e a amónia (NH_4^+) é convertida em amoníaco (NH_3), o qual é destilado e recolhido em ácido bórico.

O processo termina com uma titulação ácido-base utilizando o ácido sulfúrico como titulante e um indicador corado (mistura de vermelho de metilo/azul de metileno).

A determinação do azoto na amostra fresca, em percentagem, é realizada através da seguinte expressão (11):

$$N (\%) = \frac{C \times (V - V_0) \times 0,014}{m_0} \times 100 \quad (11)$$

Em que,

N = Teor de azoto em percentagem (%)

C = Concentração do titulante expresso em normalidade (N)

V = Volume de titulante gasto (ml)

V₀ = Volume de titulante gasto no ensaio em branco (ml)

m₀ = Massa de amostra utilizada na digestão (g)

Para calcular o teor proteico (%), o valor do azoto (N) é multiplicado pelo fator Kjeldahl (ou fator Jones) de 6,25.

Analísaram-se 6 réplicas de cada amostra.

A análise de proteínas nas amostras de água foi efetuada pelo método oficial para a determinação do azoto orgânico em águas, SNEWW 4500-Norg. B (95), que tem como base o mesmo processo e foi aplicado nas mesmas condições, utilizando-se tomas de

ensaio de 25 mL e aplicando a seguinte expressão para a determinação do azoto orgânico e amoniacal, em mg/L (12):

$$N \text{ (mg/L)} = \frac{C \times (V - V_0) \times 14000}{V_i} \quad (12)$$

Em que,

N = Teor de azoto na amostra de água (mg/L)

C = Concentração do titulante expresso em normalidade (N)

V = Volume de titulante gasto (ml)

V₀ = Volume de titulante gasto no ensaio em branco (ml)

V_i = Volume da amostra (ml)

Para obter o teor proteico, em percentagem, o valor obtido é multiplicado por 6,25.

Analisaram-se 6 réplicas de cada amostra.

4.5. Métodos potenciométricos e nefelométricos

A secção dos métodos potenciométricos e nefelométricos refere-se exclusivamente às análises das águas de fervura e confeção, nomeadamente para a sua caracterização. Analisou-se uma réplica de cada amostra para estes ensaios.

4.5.1. pH

O pH das água foi determinado por potenciometria (SMEWW 4500-H⁺ B) (95).

A determinação foi efetuada com um eléctrodo combinado de vidro acoplado a uma sonda de compensação automática da temperatura (pH a 20 °C). O resultado é expresso em unidades de pH da escala Sørensen (0-14), seguido pelo valor da temperatura (°C).

4.5.2. Condutividade, salinidade e sólidos dissolvidos totais

A condutividade, a salinidade e os sólidos dissolvidos totais nas águas foram determinados por condutimetria, com recurso ao condutivímetro portátil da Eutech (com compensação automática da temperatura, 25 °C).

A condutividade foi determinada segundo os requisitos do método de referência SMEWW 2510 B (95).

A condutividade eletrolítica é a capacidade de uma solução ser percorrida por uma corrente elétrica e representa o recíproco da resistividade da solução (resistência oferecida por uma massa de água à passagem de uma corrente elétrica alterna). A condutividade da água corresponde ao seu conteúdo iónico ou grau de mineralização, e é expressa em S/cm.

A salinidade e os sólidos dissolvidos totais (TDS, *Total Dissolved Salts*) são determinados no condutivímetro através de um algoritmo automático aplicado ao valor da condutividade elétrica.

4.5.3. Fluoretos

Os fluoretos nas águas foram determinados por potenciometria com um eletrodo seletivo de fluoretos, de acordo com o método de referência SMEWW 4500-F-C (95).

A quantificação de fluoretos em solução é possível devido à medição da diferença de potencial elétrico estabelecida entre a solução em análise e a membrana sensível de cristal de fluoreto de lantânio presente no eletrodo, acoplado a um eletrodo de referência de prata ou cloreto de prata. Essa diferença potencial estabelecida corresponderá a determinada concentração dos iões fluoretos. A influência nesta medição por parte da força iónica, do pH e das espécies complexantes de fluoretos é acautelada pela utilização da solução tampão de ajuste da força iónica ou TISAB, que uniformiza a força iónica, ajusta o pH e elimina a interferência dos sais alcalino-terrosos ou metais (complexam com os fluoretos)

Mediu-se o potencial (mV) dos padrões e das amostras (20 mL) após mistura em partes iguais com solução TISAB. A curva de calibração, potencial (mV) *versus* concentração (mg/L F⁻) foi construída com recurso a sete padrões (0,06 mg/L - 1,00 mg/L).

A concentração de fluoretos nas amostras (mg/L) foi realizada por interpolação na curva de calibração.

4.5.4. Metais

Alguns metais (Al, Cd, Cr, Fe Ni e Pb) foram analisados por espectrometria de absorção atómica, de acordo com os métodos 3110 da SMEWW para a determinação de metais em águas (95). As amostras de água foram diretamente enviadas para o Laboratório de Águas do Litoral Alentejano (LALA, Sines), onde foram efetuadas as análises. Os resultados são expressos em µg/L.

4.5.5. Turvação

A turvação, expressa em unidades nefelométricas de turvação (UNT), foi determinada por nefelometria com recurso a um turbidímetro, de acordo com a norma ISO 7027 -1 :2016 (116).

4.6. Métodos espectrofotométricos

4.6.1. Determinação da vitamina C

A vitamina C, ou ácido L-ascórbico, é uma vitamina solúvel em água, sensível em pH alcalino e facilmente oxidada, principalmente por iões metálicos (cobre e ferro) e outros catalizadores (luz, radiação, temperatura elevada...). A vitamina C encontra-se em equilíbrio entre as formas reduzida e oxidada (ácido L-ascórbico e ácido L-dehidroascórbico, respetivamente).

Os métodos clássicos para a determinação de vitamina C baseiam-se no seu forte poder redutor.

O teor de ácido ascórbico nos caracóis foi determinado pelo método espectrofotométrico do 2,6-diclorofenol-indofenol, de acordo com a norma NP 3030 (1985) (117) para a determinação de ácido ascórbico em frutos, produtos hortícolas e seus derivados.

Este método baseia-se na extração de ácido ascórbico do alimento por uma solução de ácido metafosfórico e ácido acético, seguida de uma redução quantitativa do 2,6

diclorofenol-indofenol (2,6-DCFIF) pelo ácido ascórbico, extração do 2,6-DCFIF em excesso pelo xileno e leitura espectrofotométrica a 500 nm, utilizando o xileno como ensaio branco. O 2,6-DCFIF em meio básico ou neutro é azul, em meio ácido é de coloração rosa e a sua forma reduzida é incolor.

Analísaram-se tomas de 30 g de amostra ($\pm 0,01$ g) de caracol. A quantificação do ácido ascórbico foi realizada por interpolação do valor da absorvência (*abs*) na curva de calibração, *abs versus* volume de 2,6-DCFIF (N = 9, 0,1 a 1 mL).

Calculou-se o teor de ácido ascórbico, em mg/100 g de alimento fresco, através da equação 13:

$$\text{Ácido ascórbico (mg/100 g)} = \frac{(V_1 - V_2) \times m_0}{m_1} \times 100 \quad (13)$$

Onde,

m_0 = Massa de ácido ascórbico, equivalente a 1,0 mL da solução corante (mg)

m_1 = Massa contida na alíquota da amostra utilizada na redução (g)

V_1 = Volume da solução de 2,6-DCFIF adicionado à amostra para análise (mL)

V_2 = Volume da solução de 2,6-DCFIF em excesso, correspondente à absorvência lida da amostra, determinado na curva de calibração (mL)

Analísaram-se 3 réplicas de cada amostra.

4.6.2. Açúcares totais

A determinação de açúcares totais foi realizada de acordo com o método AOAC 988.12:1990 (96), relativo à determinação de dextranos em cana de açúcar, que também é designado de método do ácido fenol-sulfúrico.

Os hidratos de carbono previamente hidrolisados, isolados e extraídos durante o pré-tratamento, condensam com o fenol adicionado na presença de ácido sulfúrico, sendo produzida uma cor estável que permitirá quantificar os açúcares complexados, por espectrofotometria a 490 nm.

Na quantificação de açúcares totais utilizaram-se 10 g de caracol ($\pm 0,01$ g) e tomas de análise de 1 mL, provenientes da amostra de caracóis pré-tratada (Secção 4.2, Figura 23). A reta de calibração *abs versus* mg/L glucose foi construída com concentrações entre 3,00 mg/L e 80,00 mg/L (N = 5).

A concentração de açúcares na amostra de ensaio, em mg/L, é obtida diretamente por interpolação na reta de calibração, e a concentração de mg glucose/100 g de caracol fresco é calculada através da equação 14:

$$Glucose (mg/100 g) = \frac{C \times Va \times Vi}{10 \times A \times m_0} \quad (14)$$

Em que,

C = Concentração obtida diretamente através da reta de calibração (mg/L)

Va = Volume de amostra no ensaio (mL)

Vi = Volume de solução inicial proveniente do pré-tratamento (mL)

A = Toma de análise (ml)

m₀ = Massa de caracol fresco utilizada para análise (g)

Analysaram-se 3 réplicas de cada amostra.

4.6.3. Ferro

A determinação de ferro nos caracóis foi realizada pelo método AOAC 944.02:1993 (96), relativo à determinação do ferro em farinhas de trigo, também referido como método da o-fenantrolina.

Este método consiste numa ebulição ácida com ácido clorídrico e hidroxilamina, que irá dissolver o ferro presente na amostra e reduzi-lo ao estado ferroso, seguido pela adição da o-fenantrolina a pH entre 3,2 e 3,3 para que as moléculas de fenantrolina formem um quelato com os átomos de ferro ferroso, com desenvolvimento de uma coloração vermelha/rosada com máximos de absorção a 510 nm.

Para a determinação de ferro foram usados 15 gramas de caracol ($\pm 0,01$ g) e tomas de análise de 20 mL provenientes da solução pré-tratada (Secção 4.2, Figura 22). A reta

de calibração, *abs versus* µg de ferro foi construída com massas entre 50,0 µg e 250 µg (N = 5).

A quantidade de ferro na amostra (µg) é obtida diretamente por interpolação na reta de calibração, e a concentração de ferro em mg/100 g de caracol é dada através da equação 15:

$$Fe (mg/100 g) = \frac{100 \times Vi \times C}{A \times m_0} \quad (15)$$

Onde,

C = Massa de ferro na amostra de acordo com a reta (mg)

Vi = Volume de solução inicial proveniente do pré-tratamento (mL)

A = Toma de análise (ml)

m0= Massa de caracol fresco utilizada para análise (g)

Analísaram-se 3 réplicas de cada amostra.

4.6.4. Fósforo

A determinação colorimétrica de fósforo total nos caracóis foi adaptada do método de referência, AOAC 965.17:1966 (96), relativo à determinação colorimétrica de fósforo total em produtos de origem animal, também conhecido como método do molibdovanado.

O método baseia-se na conversão do fósforo total presente na amostra em ortofosfato, que após reação com o molibdato, em meio ácido, forma um complexo de molibdato-fosfato que, ao reagir com o ião de vanadato, originará o ácido molibdovanadofosfórico, que possui uma cor amarelada. A intensidade dessa cor será então proporcional à concentração de iões fosfato na amostra, sendo registrada por espectrofotometria a 420 nm.

Nas análises consideram-se 15 gramas de caracol (± 0,01 g) e tomas de ensaio de 1 mL provenientes da solução pré-tratada (Secção 4.2, Figura 22). A curva de calibração *abs versus* mg fósforo foi construída com massas entre 0,03 e 0,50 mg (N = 10).

A quantidade de fósforo na amostra (mg) é obtida diretamente por interpolação na reta de calibração, e o teor de fósforo em mg/100 g de produto fresco, é determinado segundo a equação 16:

$$P \text{ (mg/100g)} = \frac{(C \times V) \times 100}{m \times A} \quad (16)$$

Onde,

C = Quantidade de fósforo obtida segundo a curva de calibração (mg)

V = Volume da solução da amostra inicial (mL)

m = Massa da amostra (g)

A = Volume da alíquota de amostra utilizada no ensaio colorimétrico (mL)

Analysaram-se 3 réplicas de cada amostra.

4.6.5. Zinco

Para a determinação do zinco adaptou-se o método do zincon, (SMEWW 3500-ZnB), utilizado para a determinação de zinco em água doce e águas residuais (95).

A pH=9 e em solução tamponada, o zinco, e os metais pesados em geral, formam um complexo azulado ao reagir com o corante zincon. Ao adicionar-se, numa primeira fase, cianeto à amostra, este irá complexar-se a todos os metais pesados presentes na amostra, incluindo o zinco. É depois adicionada ciclohexanona para libertar seletivamente o zinco, para que este possa reagir com o corante de zincon e formar um complexo azulado, seguindo-se a determinação por espectrofotometria a um comprimento de onda de 620 nm.

Para a análise de quantificação de zinco usaram-se 15 g de caracol ($\pm 0,01$ g) e tomas de ensaio de 23 mL, provenientes da solução pré-tratada (Secção 4.2, Figura 22). A reta de calibração *abs versus* mg/L zinco foi construída com concentrações entre 0,40 e 4,00 mg/L (N = 7). A curva de calibração fornece diretamente a concentração de zinco na amostra (mg/L) por interpolação gráfica. Para converter o valor obtido em mg de zinco por 100 g de caracol fresco, é utilizada a equação 17:

$$Zn (mg/100g) = \frac{V_i \times V \times C}{m \times A \times 10} \quad (17)$$

Em que,

C = concentração de zinco obtida segundo a curva de calibração (mg/ L)

V = Volume da amostra de ensaio (mL)

V_i = Volume de solução inicial proveniente do pré-tratamento (mL)

m = Massa da amostra de caracol fresco (g)

A = Toma de análise utilizada no ensaio colorimétrico (mL)

Analysaram-se 3 réplicas de cada amostra.

4.7. Espectrometria de plasma indutivo (ICP-MS) e de emissão atômica por plasma acoplado (ICP-AES)

4.7.1. Metais

O teor de metais foi determinado por espectrometria de plasma indutivo acoplado ao detetor de massa (ICP-MS), pelo método de referência AOAC 2015.01:2015 para a quantificação de metais em alimentos (96). Alguns metais foram também determinados por espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado (ICP-AES), nomeadamente o silício, o bário, o potássio, o sódio, o alumínio, o cobre e o manganês, pelo método 990.08 da AOAC relativo à quantificação de metais em resíduos sólidos (96).

As amostras de caracóis 15 g (± 0,01 g) foram previamente incineradas, e o resíduo obtido foi dissolvido em ácido nítrico e água ultra-pura (Secção 4.2, Figura 22). A análise foi realizada no Serviço de Química Inorgânica da Direção de Laboratórios e de Controlo da Qualidade da Água da Empresa Portuguesa das Águas Livres SA (EPAL). Os resultados, expressos em µg/L, foram convertidos a µg/100 g de caracol fresco através da equação 18:

$$Metal (\mu g/100 g) = \frac{V_i \times C}{m \times 10} \quad (18)$$

Em que,

C = Concentração do metal obtido por ICP-MS/ICP-AES ($\mu\text{g/L}$)

V_i = Volume de solução inicial proveniente do pré-tratamento (mL)

m = Massa da amostra de caracol fresco (g)

Analisou-se uma réplica de cada amostra, embora fossem realizadas três réplicas na análise instrumental.

4.8. Métodos cromatográficos

4.8.1. Pesticidas

Os resíduos pesticidas foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa (HPLC-MS/MS), com base no método AOAC 2007.01:2007 (96), relativo à determinação de pesticidas em alimentos.

Os potenciais pesticidas da amostra foram extraídos por tratamento da amostra com diclorometano (Secção 4.2, Figura 24).

A análise externa foi realizada no Serviço de Química Orgânica da EPAL. Para a sua quantificação, as amostras tiveram ainda de ser diluídas no fator de 1 para 10 (V/V).

O HPLC foi realizado com gradiente de eluição (Tabela 26), utilizando como fase móvel duas soluções metanólicas de diferentes proporções (V/V) com acetato de amónio (5mM), a fluxo constante de 0,3 mL/min, com 20 μL de volume de injeção e com uma temperatura da coluna configurada para os 30 °C.

Tabela 26 – Condições da eluição por gradiente. A – Solução metanol/água (1:9); B – Solução metanol/água (9:1).

Tempo (min)	A (%)	B (%)
0	100	0
15	0	100
25	0	100
25,1	100	0
30	100	0

A identificação dos compostos no espectrômetro de massa ocorreu em modo de ionização positiva. A Tabela 27 apresenta as condições de operação do espectrômetro de massa. As condições ótimas para a definição das transições MRM1 e MRM2 e a energia de colisão para cada pesticida estão especificadas no Anexo I.

Tabela 27 – Condições de operação do espectrômetro de massa.

Gás de nebulização, dessolvatação e de corte	Azoto
Gás de colisão	Árgon
Ionização	<i>Electrospray</i>
Voltagem no capilar	3,5 kV
Voltagem no extrator	2 V
Voltagem nas lentes RF	0,5 V
Temperatura da fonte	150 °C
Temperatura de dessolvatação	350 °C
Voltagem no multiplicador	650 V
Fluxo do gás de dessolvatação	800 L/h
Fluxo do gás do cone	50 L/h
Pressão do gás de colisão	2.83×10^{-3} mbar

Os resultados expressos, em µg/L, foram convertidos a µg/kg de produtos fresco através da equação 19:

$$Pesticida (\mu g/kg) = \frac{Vd \times C}{m} \quad (19)$$

Em que,

C = Concentração do pesticida obtido por HPLC-MS ($\mu\text{g/ L}$)

Vd = Volume de diluição aplicado (mL)

m = Massa da amostra de caracol fresco (g)

Analisou-se uma réplica de cada amostra, embora fossem realizadas três réplicas na análise instrumental.

Capítulo IV. Resultados e discussão

1. Preparação da amostra

No âmbito deste trabalho analisaram-se dois tipos de amostra de caracol (*Otala lactea*, *OI* e *Theba pisana*, *Tp*), que foram analisados após fervura (*OI* e *Tp*) ou cozinhados (*OI_C* e *Tp_C*). Em ambos os casos, a parte edível foi separada da respetiva casca e registaram-se ambas as massas. O volume de água utilizado para a fervura e o volume de água dos caracóis cozinhados também foi registado. A Tabela 28 apresenta as massas e volumes relativos a ambos os processos de preparação da amostra.

Tabela 28 – Massa total, massa edível e massa das cascas do caracol *Theba pisana* (*Tp* e *Tp_C*) e da caracoleta riscada *Otala lactea* (*OI* e *OI_C*), e respetivos volumes de água.

	<i>OI</i>	<i>OI_C</i>	<i>Tp</i>	<i>Tp_C</i>
Massa total (g)	1199	1064	3109	2064
Massa das cascas (g)	450	598	1512	1198
Massa edível (g)	748	466	1597	866
Volume de água (mL)	2120	775	5230	780
Massa edível/ volume água (%)	35	60	31	111

Não é possível saber a massa exata de caracol e os volumes de água utilizados na confeção dos caracóis cozinhados, efetuada pela casa comercial onde foram adquiridos (*Casa dos Caracóis* do Grupo Francisconde). Apenas se pode avaliar a massa de caracol e o volume de água na amostra embalada que foi comprada. As amostras cozinhadas apresentavam volumes de água muito semelhantes (775 mL e 780 mL) na embalagem comercial. Como a casa comercial pertence à mesma rede de distribuição de água da Faculdade de Farmácia (rede de distribuição de água de consumo humano de Lisboa), admite-se que a confeção dos caracóis foi efetuada com água da rede de abastecimento. Face à quantidade de amostra processada e ao tamanho da panela utilizada, os volumes de água de fervura foram mais elevados, ultrapassando os 2 litros para as águas de fervura da caracoleta riscada *Otala lactea* e 5 litros para as águas de fervura dos caracóis *Theba pisana*. A discussão das concentrações de alguns parâmetros nas águas terá de ter estas premissas em consideração.

Na Figura 25 é apresentada a percentagem de massa edível em cada amostra.

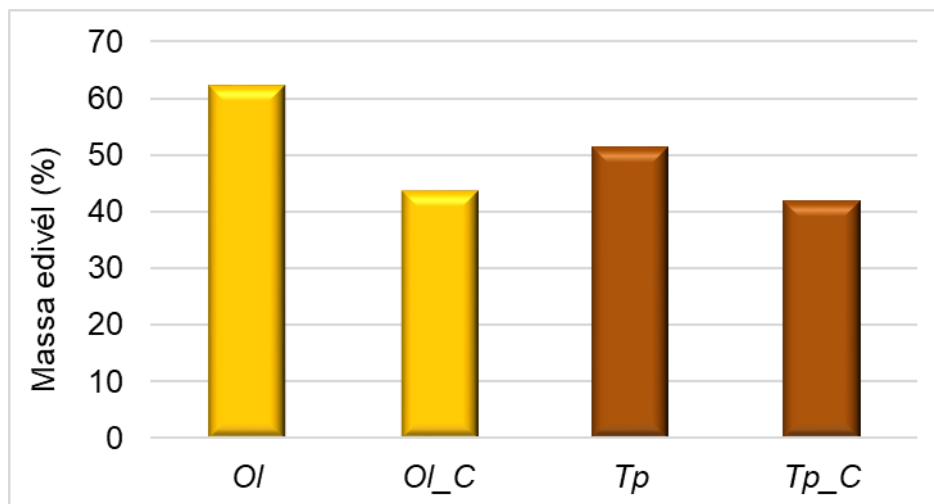


Figura 25 –Massa edível das diferentes amostras de caracol: Caracoleta riscada *Otala lactea* e caracol *Theba pisana* após fervura (Ol e Tp) e cozinhados (Ol_C e Tp_C).

A massa edível variou entre 42% (Tp_C) e 62% (Ol). A espécie com maior massa edível é a *Otala lactea*, embora a massa edível das amostras cozinhadas seja muito semelhante 42% (Tp_C) e 44% (Ol_C). Durante a sua confeção, a caracoleta riscada tem uma perda de massa edível superior (19%) à do caracol *Theba pisana* (9,5%). Esta tendência de decréscimo nas amostras cozinhadas pode justificar-se pela alteração da textura dos caracóis processados e ao efeito da temperatura e do tempo de confeção, que levam à perda de massa de água e minerais e à alteração dos macronutrientes, nomeadamente das proteínas e dos lípidos (118). Nas amostras fervidas, a percentagem de massa edível da caracoleta riscada Ol é 11% superior à percentagem da massa edível do caracol Tp. A facilidade em extrair a carne de caracol manualmente das suas cascas também teve impacto nos resultados obtidos porque dado que a consistência da massa edível do animal fervido é inferior à do animal cozinhado, nem sempre se conseguiu extrair a parte edível na sua totalidade nas amostras fervidas. Esta dificuldade foi maior nos caracóis da espécie *Theba pisana* devido ao seu tamanho mais reduzido.

Comparando com outras espécies, Gomot (48) demonstrou que fatores ambientais e fisiológicos, nomeadamente a idade do caracol, a natureza do solo e da vegetação e a influência sazonal (interrupções no crescimento, períodos de estivação ou hibernação...),

interferem na proporção da concha em relação ao corpo do caracol. Animais mais velhos e em ambiente selvagem apresentaram maiores proporções de concha, ou seja, menos proporções de massa edível (48). As proporções de massa edível médias para caracóis *Helix aspersa aspersa* ($\geq 88,2\%$), *Helix aspersa maxima* ($\geq 88,1\%$), *Helix lucorum* ($\geq 81\%$) e *Helix pomatia* ($\geq 77,8\%$) apresentam valores bastante mais elevados que os verificados neste estudo para a espécie *Theba pisana* e *Otala lactea* (48). No entanto, num estudo de Sando *et al.* (16) é apontado que, consoante o tipo de processamento e separação da massa visceral, a parte edível dos caracóis situa-se apenas entre 20% e 38%.

Na discussão dos parâmetros nutricionais relativos aos caracóis, serão consideradas porções de 100 g e quantidades referentes à carne de caracol analisado, que representa a parte consumível e de interesse. Considerando a massa de caracol total, onde a massa da concha está incluída, esta quantidade de 100 g de massa edível corresponderia ao total de 160 g de caracol *OI*, 228 g de caracol *OI_C*, 195 g de caracol *Tp* e 238 g de caracol *Tp_C*.

2. Caracterização da água

As águas de cozedura e de fervura dos caracóis foram caracterizadas em vários parâmetros da qualidade da água, nomeadamente, pH, turvação (Turv), condutividade (Cond), fluoretos (F), salinidade (Sal), resíduo seco (RS), proteínas (Prot) e matéria gorda total (MGT). Também se analisaram alguns minerais e metais, nomeadamente o alumínio, o cádmio, o chumbo, o crómio, o ferro e o níquel, cuja determinação foi realizada por um laboratório externo (Laboratório de Águas do Litoral Alentejano). As amostras apresentam os mesmos acrónimos que as amostras de caracóis, mas antecedidas pelo prefixo *H2O*. Como o volume de água é variável para as diferentes amostras e como nas amostras cozinhadas o volume é substancialmente menor, o número de réplicas para alguns parâmetros é reduzido ($n=1$). O número de réplicas foi maior nas determinações com maior processamento de amostra. A Tabela 29 apresenta os resultados de todos os parâmetros analisados.

Ao nível sensorial, as águas de fervura e de confeção de ambas as espécies de caracóis são completamente distintas. As primeiras são de tonalidade amarelada e mais límpida, enquanto as segundas são turvas e de tom acastanhado. Consequentemente, os valores da turvação são diferentes. A condutividade e o pH poderão ser parâmetros importantes para distinguir a natureza química da maioria das substâncias extraídas em

ambos os processos. De modo a ter um termo de comparação, foi analisada em paralelo a água da torneira da sala de lavagens do laboratório de Bromatologia e Qualidade da Água, de onde foi colhida a água para a fervura dos caracóis. A água apresentava pH = 7,1 @ 20 °C, 1,2 UNT, 415 μ S/cm@25 °C, 208 mg/L de resíduo seco, 0,5 mg/L (F) e salinidade nula.

Tabela 29 – Caracterização das águas de fervura e de cozedura da caracoleta riscada *Otala lactea* e do caracol *Theba pisana*.

Amostras	pH, 20°C	Turv (UNT)	Cond (mS/cm, 25 °C)	F (mg/L)	Sal	RS (mg/L) (DPR, %)	Prot (mg/L) (DPR, %)	MGT (mg/L) (DPR, %)
n			1				3	
H2O_OI	7,6	38	1,4	0,5	0,71	$1,3 \times 10^3$ (0,54)	651 (13)	114 (15)
H2O_OI_C	5,0	272	44	2,1	28	51×10^3 (8,0)	6718 (8,0)	398 (5,7)
H2O_Tp	6,9	37	3,2	0,8	1,6	$3,2 \times 10^3$ (0,27)	2022 (4,3)	180 (9,4)
H2O_Tp_C	4,8	59	42	2,1	27	60×10^3 (1,2)	9129 (1,8)	1152 (17)

Os valores de pH das águas variaram entre 4,8 (*H2O_Tp_C*) e 7,6 (*H2O_OI*). As amostras de água de fervura são neutras (pH \approx 7), enquanto as amostras de água de confeção são ligeiramente ácidas (pH \approx 5). O pH das águas de fervura de ambas as espécies de caracóis é muito semelhante (7,6 e 6,9) tal como acontece entre as águas de cozedura (5,0 e 4,8). O pH das águas de fervura é praticamente igual ao pH da água de abastecimento (\cong 7,0) porque como o tempo de fervura foi curto, não seria expectável que os caracóis contribuíssem para a acidificação das águas. A diminuição do pH da água de cozedura deve estar associada à dissolução de alguns componentes do caracol, mas maioritariamente ao tipo de condimentos utilizados na sua confeção, nomeadamente, especiarias, caldos de carne, orégãos, entre outros. Os caldos de carne usualmente utilizados na confeção dos caracóis podem ter agentes anti-oxidantes, como o ácido ascórbico ou o ácido cítrico, os quais também poderão ter contribuído para este efeito. No anexo II é apresentado um exemplo da composição de uma calde de carne, que contém

na sua formulação ingredientes como sal, açúcares, cenoura, alho francês, gorduras, aromas, espessantes, salsa, especiarias, corantes (alfa e beta caroteno) e carne de galinha. Também em embalagens de caracóis embalados prontos a consumir de várias marcas, disponíveis em algumas grandes superfícies comerciais, são rotulados ingredientes como intensificadores de sabor, caldos de galinha, sal, gorduras vegetais, cebola, aromas, ovo, especiarias, alho, orégãos e antioxidantes (Anexos III e IV). Estas formulações podem ser parecidas às utilizadas nas amostras cozinhadas adquiridas para este estudo.

A turvação das águas variou entre 38 UNT (*H2O_OI*) e 272 UNT (*H2O_OI_C*). As águas de fervura mantêm valores praticamente constantes independentemente da espécie de caracol, o que é indicativo não só do pouco tempo de contacto da amostra com a água, como da quantidade de substâncias extraídas das amostras. A turvação da água de abastecimento analisada foi de 1,2 UNT, e os valores indicados na legislação para as águas de consumo na rede de distribuição são de 4 UNT (119), indicativo de que apenas a fervura de caracóis sem a adição de ingredientes, já contribui também para um aumento significativo da turvação das águas. As substâncias extraídas na espécie *Theba pisana* foram maioritariamente do tipo inorgânico, uma vez que para valores semelhantes de turvação existe uma condutividade cerca de 3 vezes superior para essa espécie.

A condutividade para as águas de fervura e confeção de caracóis está compreendida entre 1,4 mS/cm (*H2O_OI*) e 44 mS/cm (*H2O_OI_C*). O aumento da turvação nas águas de cozedura foi mais acentuado na espécie *Otala lactea*. Assumindo que o tipo de ingredientes utilizado é muito semelhante na confeção de ambas as espécies, e como a condutividade é semelhante, isto significa que durante a cozedura são extraídas substâncias de natureza orgânica, que são responsáveis pelo aumento da turvação.

A salinidade nas águas de fervura e confeção dos caracóis variaram entre 0,71 (*H2O_OI*) e 29 (*H2O_OI_C*). Devido à adição de substâncias salgadas para o tempero dos caracóis, as amostras de confeção têm uma salinidade bastante mais elevada, que se deve maioritariamente ao cloreto de sódio adicionado. Nas amostras de fervura, o ligeiro aumento da salinidade corresponderá presumivelmente a uma pequena influência dos caracóis durante o processo.

A concentração de fluoretos nas águas variou entre 0,52 mg/L (*H2O_OI*) e 2,1 mg/L (*H2O_OI_C* e *H2O_Tp_C*). Nas amostras de água de fervura, a da *Theba pisana* apresenta valores mais elevados de fluoretos. O aumento ligeiro da concentração de

fluoretos nas águas de confeção face ao verificado nas águas de fervura de ambas as espécies de caracóis, indica uma fraca contribuição do processo de confeção no teor de fluoretos. Isto sugere que não foram adicionados ingredientes com fluoretos durante a confeção. Deste modo, a diferença de valores deve-se essencialmente à quantidade de fluoretos na espécie de caracol. Como as águas nacionais são pouco fluoretadas, ambas as espécies de caracóis podem ser um contributo significativo neste nutriente, principalmente a espécie *Theba pisana*. As duas águas de fervura apresentam concentrações de fluoreto abaixo do valor paramétrico legal de 1,5 mg/L para a água de consumo humano (119). A ligeira variação entre as amostras H2O_OI e H2O_Tp pode dever-se a uma transferência de fluoretos dos caracóis, embora pequena, que terá sido maior na fervura da espécie *Theba pisana*. Como se utilizou um maior volume de água na espécie *Theba pisana*, era expectável que a contribuição de fluoreto fosse menos perceptível. Como a concentração de fluoretos é maior, pode indicar que a espécie *Theba pisana* apresenta um teor de fluoretos bastante mais elevado que a espécie *Otala lactea*, suficiente para contrariar o efeito de diluição da água de fervura H2O_Tp.

O resíduo seco nas águas variou entre 1,3 g/L (H2O_OI) e 60 g/L (H2O_Tp_C). Os valores maiores pertencem às águas de confeção, que são superiores a 50 g/L em ambas as águas. Mesmo nas águas de fervura houve um aumento significativo (6 e 15 vezes superior) deste parâmetro face ao valor na água de consumo humano (208 mg/L). Todas as substâncias adicionadas no processo e/ou extraídas dos caracóis contribuíram para o aumento deste parâmetro. Como seria expectável, as amostras confeccionadas apresentam um teor bastante mais elevado de resíduo seco (> 5%), onde se incluem as frações não volatilizáveis de todos os ingredientes usados e de potenciais pequenos fragmentos de carne de caracol ou cascas que se perderam durante a confeção. As diferenças verificadas entre as amostras H2O_OI_C e H2O_Tp_C podem indicar, não só diferenças entre as duas espécies, mas também a utilização de diferentes proporções na confeção dos dois tipos de caracóis ou no tempo e temperatura de cozedura.

Todas as amostras de água apresentaram um teor de proteína inferior a 1%. As águas de confeção de *Otala lactea* e *Theba pisana* representam os maiores teores de proteína, nomeadamente 6718 mg/L (0,67%) e 9129 mg/L (0,91%), em oposição aos das águas de fervura, 651 mg/L (0,065%) e 2022 mg/L (0,20%). Os resultados mostram que, em qualquer uma das amostras de água, o teor proteico é muito baixo comparativamente aos valores de proteína nos caracóis. A discrepância entre os valores obtidos para as amostras fervidas e confeccionadas vão de encontro com a premissa de que durante a

confeção existe perda proteica de alimentos para o meio (118). Contudo, considerando os resultados obtidos para a carne de caracol (Secção 3.3), é esperado que a fração proteica presente nessas águas se deva essencialmente à desnaturação, dissolução e transferência de proteínas dos ingredientes para a solução de confeção, provenientes sobretudo dos caldos de carne (118). Esta hipótese é também fortalecida pela concentração proteica residual obtida para as águas de fervura que, apesar de estarem relacionadas a um processamento mais suave, demonstram a escassez da transferência de proteínas proveniente dos caracóis para a água, admitindo a isenção de proteínas na água de abastecimento de consumo em que foram fervidos.

A matéria gorda total nas amostras variou entre 114 mg/L (0,011%) (H2O_OI) e 1152 mg/L (0,12%) (H2O_Tp_C). Os resultados comprovam que a gordura presente nas águas é baixa comparativamente aos respetivos valores nos caracóis (Secção 3.1). Durante a cozedura, devido aos ingredientes usados, há um aumento do teor de gordura no meio, que é mais acentuado na confeção dos caracóis da espécie *Theba pisana*.

Relativamente ao teor mineral das águas, os resultados das análises efetuadas são representadas na Figura 26.

Devido à grande diferença entre os volumes correspondentes às amostras H2O_OI e H2O_Tp (cerca de 2,5 vezes maior na amostra H2O_Tp) (Secção 1, Tabela 28), é expectável que a água de fervura de *Theba pisana* seja bastante menos mineralizada do que a água de fervura da caracoleta *Otala lactea*, caso exista transferência de teor mineral do caracol para as águas de processamento.

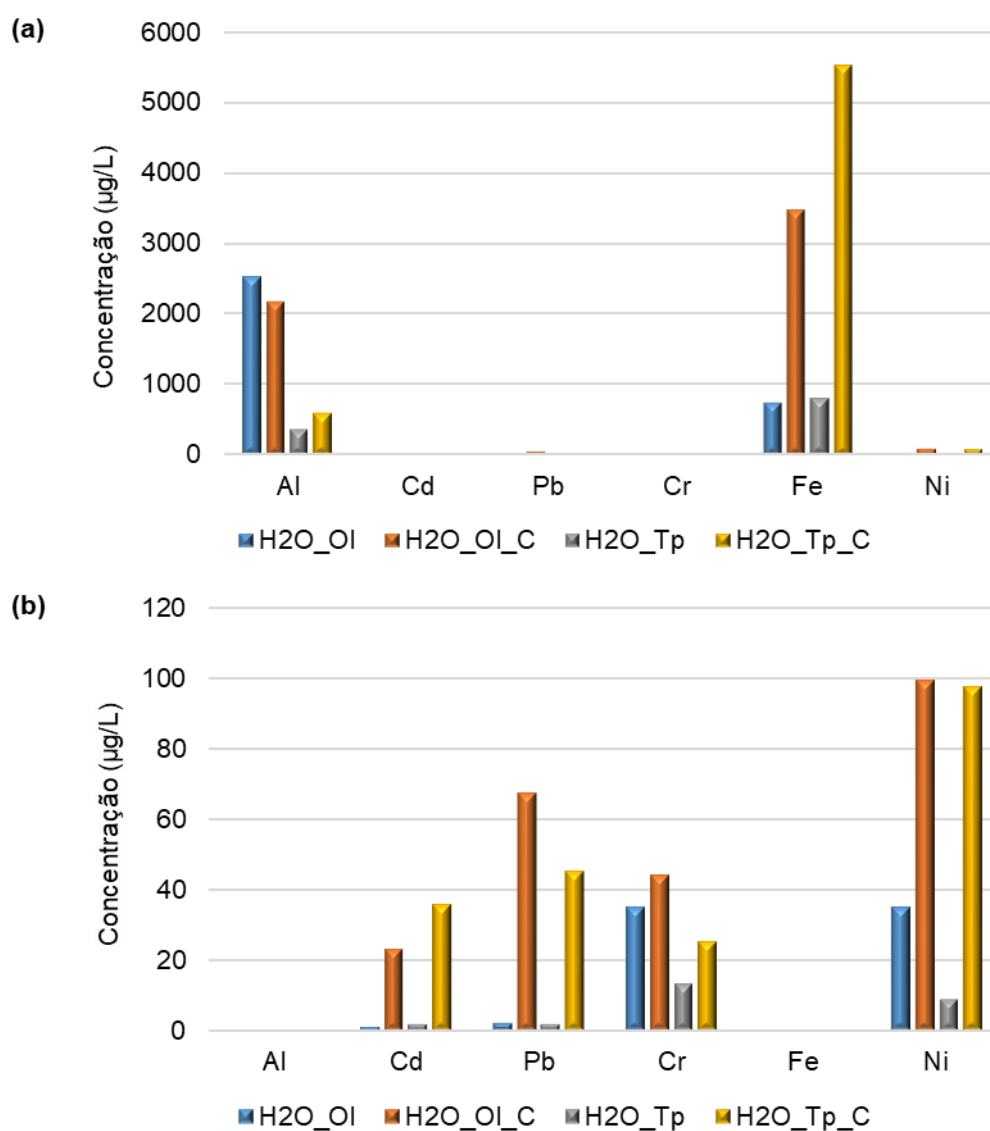


Figura 26 – Teor médio de minerais Al e Fe (a) e Cd, Pb, Cr e Ni (b) nas águas de fervura (H2O_OI e H2O_Tp) e de confeção (H2O_OI_C e H2O_Tp_C).

Os elementos mais abundantes nas águas foram o alumínio (378 µg/L (H2O_Tp) – 2530 µg/L (H2O_OI)) e o ferro (748 µg/L (H2O_OI) – 5530 µg/L (H2O_Tp_C)), que também representam os minerais em maior concentração nas próprias águas de consumo humano.

No caso do ferro, as amostras H2O_OI e H2O_Tp apresentam resultados muito similares (748 µg/L e 800 µg/L). Como a água é proveniente da mesma fonte (rede de abastecimento da região de Lisboa), conclui-se que os caracóis influenciaram o teor mineral da água de fervura. Deste modo, as pequenas alterações indicam que a espécie *Theba pisana* perde mais ferro para o meio que a caracoleta *Otala lactea*. Tal como esperado, o teor de ferro aumenta consideravelmente nas amostras H2O_OI_C e H2O_Tp_C, (3463 µg/L e 5530 µg/L), dada a adição de ingredientes com ferro, tais como caldos de carne. O teor de ferro é maior na água de confeção da espécie *Theba pisana*, o que poderá indicar uma formulação culinária mais rica em ferro, a utilização de diferentes volumes de água entre as espécies, ou a adoção de condições de tempo e temperatura que promovam maior transferência de ferro dos ingredientes utilizados para o meio na confeção dos caracóis *Theba pisana*. O valor paramétrico legislado relativo à presença de ferro em águas de consumo humano na rede de distribuição é de 200 µg/L (119), que está abaixo dos resultados obtidos, o que corrobora a conclusão de que houve transferência de ferro dos caracóis e outros ingredientes (no caso das águas de cozedura), para o meio envolvente.

No caso do alumínio, a concentração é maior nas águas relativas à espécie *Otala lactea* (2530 µg/L para H2O_OI e 2173 µg/L para H2O_OI_C), do que nas águas da espécie *Theba pisana* (378 µg/L para a H2O_Tp e 601 µg/L para a H2O_Tp_C). Essa variação indica que a fervura dos caracóis desempenha um papel importante no teor de alumínio da água. Já se previa que a amostra H2O_Tp tivesse uma menor concentração mineral, mas a proporção dos volumes usados (> 2,5) não é proporcional à diferença de concentrações de alumínio encontrada (> 6,7). Isto sugere que a espécie *Otala lactea* perdeu muito mais alumínio para o meio do que a espécie *Theba pisana*. O valor paramétrico legislado relativo à presença de alumínio em águas de consumo humano na rede de distribuição é de 200 µg/L, que está abaixo dos resultados obtidos, o que suporta a conclusão de que houve transferência de alumínio dos caracóis para a água de fervura. Contrariamente ao que acontece no ferro, nas amostras de água de cozedura o teor em alumínio é maior na espécie *Otala lactea*. Admitindo a utilização de volumes de águas de confeção iguais, teriam de haver mais fontes de alumínio externas na confeção da caracoleta riscada *Otala lactea*, ou esta teria de ter perdido muito mais alumínio para o meio que a espécie *Theba pisana*. Admitindo a utilização de volumes diferentes e atendendo à tendência contrária verificada no ferro, teria de ser admitido que as formulações de confeção para as duas espécies foi diferente.

Nos restantes elementos, destaca-se a presença de chumbo e cádmio praticamente apenas nas águas de cozedura, o que sugere que esse processamento pode extrair chumbo dos caracóis ou de outros ingredientes presentes na confeção. Verifica-se o mesmo cenário para o crómio e o níquel, apesar de haverem registos de teores mais substanciais para estes elementos também nas águas de fervura.

A relação entre os valores paramétricos legislados (119) para o cádmio (5 µg/L), chumbo (10 µg/L), crómio (50 µg/L) e níquel (20 µg/L) nas águas de consumo humano e as concentrações destes metais nas águas de confeção, comprova que houve transferência de cádmio, chumbo e níquel dos caracóis e/ou outros ingredientes para as águas de confeção. Para o crómio, verificam-se resultados abaixo dos valores paramétricos, logo, não houve transferência significativa deste mineral. O valor de níquel só está abaixo do valor paramétrico na amostra H2O_*Tp*, sendo consideravelmente mais elevado nas amostras cozinhadas, o que pode indicar que a maior transferência de níquel para os meios de cozedura se deve principalmente a ingredientes externos.

Como o número de amostras é reduzido e a variabilidade da concentração mineral nos caracóis é elevada, nomeadamente pela possibilidade de absorção em zonas contaminadas (59,63), nunca se poderá excluir que em determinado lote possa existir um ou mais indivíduos com concentrações fora do usual. Considerando que a zona de captura de todos os caracóis é a mesma, essa hipótese torna-se menos plausível, apesar de não dever ser completamente excluída.

Independentemente do tempo e da temperatura de confeção dos caracóis, dos condimentos utilizados e da sua espécie, demonstra-se que as águas de cozedura também são uma fonte nutricional que não deve ser desprezada. É expectável que a maior contribuição de nutrientes seja em minerais, face à sua solubilidade na água e aos valores de condutividade obtidos.

3. Matéria seca e macronutrientes dos caracóis

Dada a forma de comercialização, preparação e consumo dos caracóis, a concentração dos vários macronutrientes será reportada em peso fresco e não em massa seca.

3.1. Matéria Seca

A Figura 27 apresenta os resultados da percentagem de matéria seca nas amostras da caracoleta riscada *Otala lactea* e do caracol *Theba pisana*, fervidas (*OI* e *Tp*) e cozinhadas (*OI_C* e *Tp_C*).

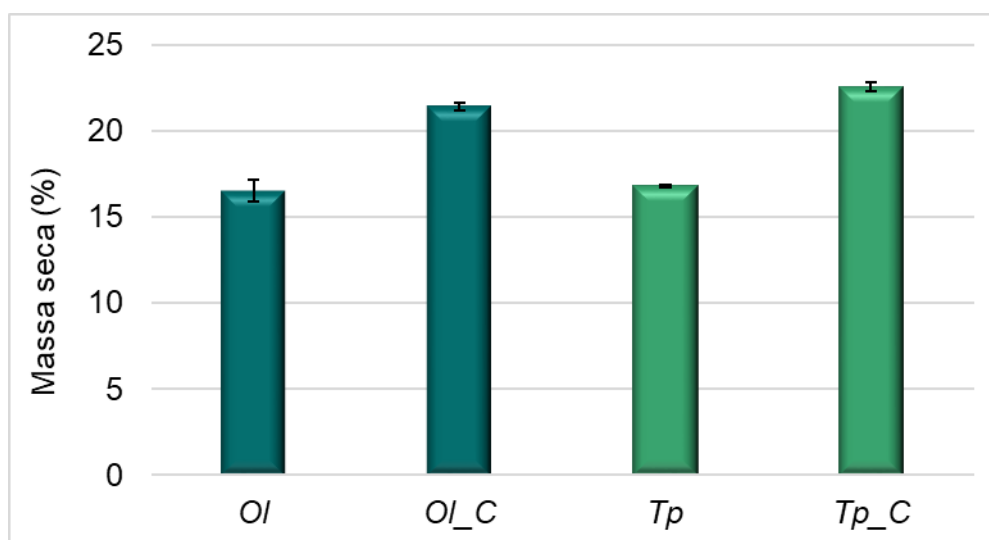


Figura 27 – Matéria seca nas amostras de *Otala lactea* e *Theba pisana*, fervidas (*OI* e *Tp*) e cozinhadas (*OI_C* e *Tp_C*), valor percentual, $n = 5$.

O valor médio percentual da matéria seca variou entre os 16,5% (*OI*) e 22,6% (*Tp_C*), com desvio-padrão relativo inferior a 5% para todas as amostras. Como era expectável, as amostras confeccionadas apresentaram valores superiores de matéria seca porque durante o seu processo de confeção perderam parte da sua massa de água (118). A partir do valor da matéria seca determinou-se o teor em água (Figura 28).

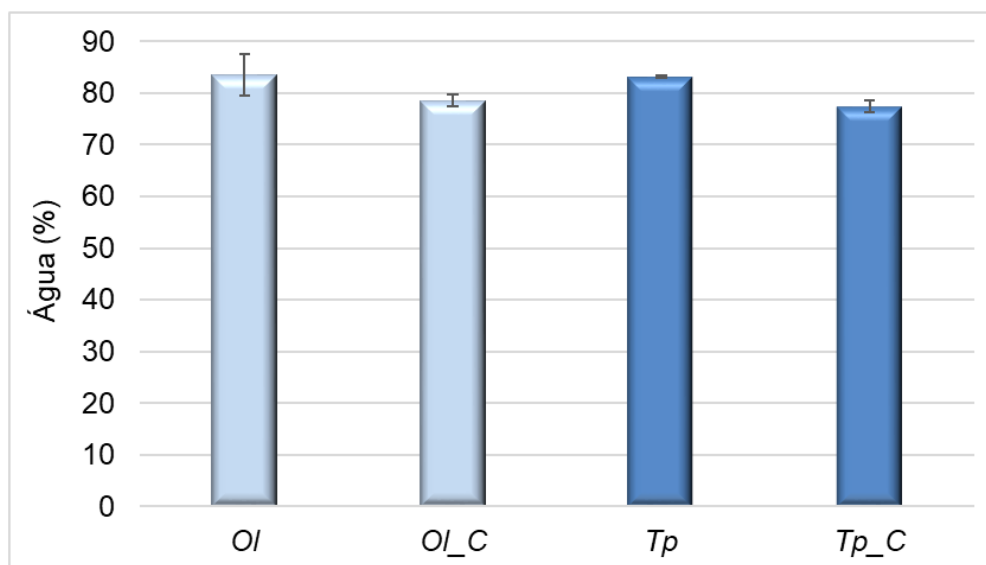


Figura 28 – Teor médio de água nas amostras de *Otala lactea* e *Theba pisana*, fervidas (OI e Tp) e cozinhadas (OI_C e Tp_C), n = 5.

O teor de água variou entre 77,5% (*Tp_C*) e 83,5% (*OI*). Os teores de água nas duas espécies são muito semelhantes. O teor de água nas amostras confeccionadas é cerca de 6% inferior ao das amostras fervidas. A temperaturas elevadas (> 100 °C), os alimentos tendem a perder água, embora também possa ocorrer adsorção/absorção de alguns constituintes dos condimentos utilizados (118,120). Este fator, associado ao método de determinação da água (por cálculo), faz com que valores do teor de água no alimento cozinhado sejam valores aproximados. No entanto, estes resultados coincidem com os valores reportados noutros estudos com várias espécies de caracóis terrestres.

Çağıltay *et al.* (14) obtiveram um teor de água de 82,5% para a espécie *Helix aspersa*, enquanto Milinsk *et al.* (92) e Gomot (48) determinaram, para as subespécies *Helix aspersa aspersa* e *Helix aspersa maxima*, valores de 83,7% e 77,5% - 87,4%, respetivamente. Noutras espécies, como a *Helix pomatia*, obtiveram-se teores de água igualmente semelhantes, de 80,8% (51) e 84,2% (48). Para os caracóis *Helix lucorum* obtiveram-se valores de 84,0% (48). Ligeiramente inferiores, mas também na mesma ordem de grandeza, Sando *et al.* (16) obtiveram teores de água entre 77,3% e 79,1% na espécie *Cernuella virgata*. Mesmo nas espécies gigantes africanas como a *Archachatina marginata*, *Achatina achatina* ou *Achatina fulica*, os valores são similares, entre 73,7% e 79,3% (50).

Apesar de ligeiras variações de espécie para espécie, cujo teor de humidade pode variar também pela temperatura e humidade em que os animais se encontram inseridos (48), confirma-se que a carne de caracol, de forma geral, é um alimento com elevado teor de água, já que todas estas espécies se inserem em intervalos entre os 70% e 90% de água, com preponderância para valores em torno dos 80%.

Nas principais tabelas nutricionais apresentadas na literatura (Capítulo I, Secção 4, Tabela 1), os valores mantêm-se similares, entre 78,8% e 80,4%, para “caracol” ou *escargot* cru e cozinhado, com exceção de um valor mais afastado de 57,2% para “caracóis cozinhados com molho de salsa”.

Os teores de água nas espécies analisadas são semelhantes aos encontrados em várias espécies de peixe, marisco e fruta, nomeadamente, bacalhau fresco cru (80%), peixe-espada preto cru (79%), camarão cru (79,2%), lula crua (81,4%), maruca crua e cozida (81,7% e 80,2%), framboesa (84,3%) e pêra (85,1%)(121). Acima destes valores, destacam-se a maioria dos frutos e vegetais, estando a carne de caracol mais próxima ao pescado cru, enquanto as tradicionais carnes como a de frango, vaca e porco possuem menos água, sobretudo quando cozinhadas, em que podem apresentar valores inferiores a 60% (121) .

3.2. Proteínas

A Figura 29 apresenta o teor em proteína nas amostras de caracoleta riscada *Otala lactea* e caracol *Theba pisana*, fervidas (*Ol* e *Tp*) e cozinhadas (*Ol_C* e *Tp_C*).

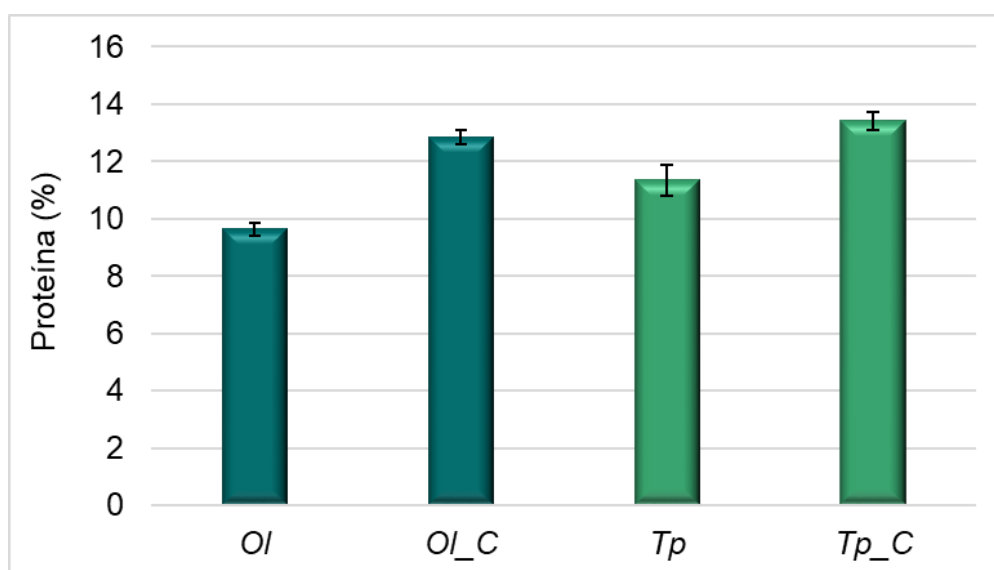


Figura 29 – Teor médio de proteína em *Otala lactea* e *Theba pisana*, fervidas (Ol e Tp) e confeccionadas (Ol_C e Tp_C), expresso em produto fresco, n = 6.

As amostras apresentam um elevado teor proteico, com valores entre os 9,6% (Ol) e 13% (Tp_C), expressos em massa fresca. O desvio-padrão relativo manteve-se abaixo dos 5% para todas as amostras, demonstrando a baixa dispersão de resultados e a elevada precisão do método de Kjeldahl.

Verificou-se um ligeiro aumento de concentração proteica nas amostras cozinhadas, concordante entre as duas espécies, sendo a espécie *Theba pisana* ligeiramente mais rica em proteínas que a espécie *Otala lactea*. Este ligeiro aumento pode dever-se à perda de água durante a confeção dos caracóis e à presença de outros ingredientes de natureza proteica (caldos de carne) que possam ter sido absorvidas pela carne de caracol, uma vez que há perdas proteicas nos alimentos durante a cozedura dos mesmos (118). Na literatura, são reportados valores proteicos similares aos obtidos, na generalidade.

Segundo Çağıltay *et al.* (14), a *Helix aspersa* apresenta um teor de proteínas de 12,9%. Um valor percentual igual ao obtido neste estudo para a espécie *Otala lactea* confeccionada, e muito próximo do resultado para o caracol *Theba pisana* confeccionado. Milinsk *et al.* (92) referem que a alimentação dos caracóis pode influenciar o seu teor proteico, apresentando valores de proteína entre 9,5% e 12,6% para a *Helix aspersa maxima*, demonstrando a existência de variabilidade entre a mesma espécie.

Gomot (48) apresentou vários teores de proteína para diferentes espécies de caracóis, nomeadamente, *Helix aspersa maxima* (7,2%), *Helix aspersa aspersa* (10,5%), *Helix lucorum* (10,8%) e *Helix pomatia* (10,7%). Estas percentagens de proteína aproximam-se dos valores obtidos neste trabalho para os caracóis fervidos das espécies *Otala lactea* (9,6%) e *Theba pisana* (11,4%). Nas principais tabelas nutricionais apresentadas na literatura (Capítulo I, Secção 4, Tabela 1), os valores são ainda superiores, entre 16,0% e 17,0% para “caracol” ou escargot cru e cozinhado, com exceção de um valor mais baixo de 12,9% para “caracóis cozinhados com molho de salsa”. Valores próximos foram confirmados para o caracol *Ceruella virgata* (entre 15,0 e 17,2%) (16) e para espécies gigantes africanas *Archachatina marginata* (19,5%) e *Achatina achatina* (17,3%) (50).

De acordo com a Agência Europeia de Segurança Alimentar (EFSA), o consumo de referência de proteínas para a população adulta de todas as idades foi estimado em 0,8 g de proteína por kg de peso corporal (122). Considerando o peso médio de um adulto 70 kg, a dose de proteína diária seria de 56 g. Este valor é concordante com o da Organização Mundial de Saúde (OMS) que também recomenda que as mulheres adultas consumam cerca de 48 g de proteína por dia, e os homens adultos, cerca de 56 g (54). Considerando o valor de dose diária recomendada (DDR) de 50 g, referido na legislação europeia (123), e caso o consumo de proteínas fosse obtido exclusivamente à base de carne de caracol, o consumo de caracóis cozinhados das espécies *Otala lactea* e *Theba pisana* necessário para satisfazer esse valor corresponderia a aproximadamente 389 g e 373 g, respetivamente. Nas mesmas condições, mas considerando uma estimativa de dose diária de consumo de caracóis mais aceitável, como por exemplo uma quantidade de 100 g de parte edível, o consumo destas duas espécies representaria, respetivamente, 25,7% e 26,8% do aporte proteico recomendado.

Comparando com a listagem quantitativa de fontes proteicas disponibilizadas através da tabela de composição de alimentos do INSA (121), os caracóis cozinhados estudados apresentam uma concentração proteica muito similar a vários tipos de alimentos crus ou confeccionados, como a soja cozida sem sal (12,5%), a feijoada com carne de porco e de vaca (13%), o ovo de galinha cozido ou cru (13%), a enguia crua (13,4%) e os flocos de aveia (13,5%), entre outros, podendo ser uma alternativa de interesse às típicas carnes consumidas em Portugal (121).

3.3. Matéria gorda total

Os teores percentuais em matéria gorda total (MGT, %) nas amostras de caracoleta riscada *Otala lactea* e caracol *Theba pisana*, fervidas e confeccionadas, estão representados na Figura 30. O desvio-padrão relativo nunca excedeu os 10%.

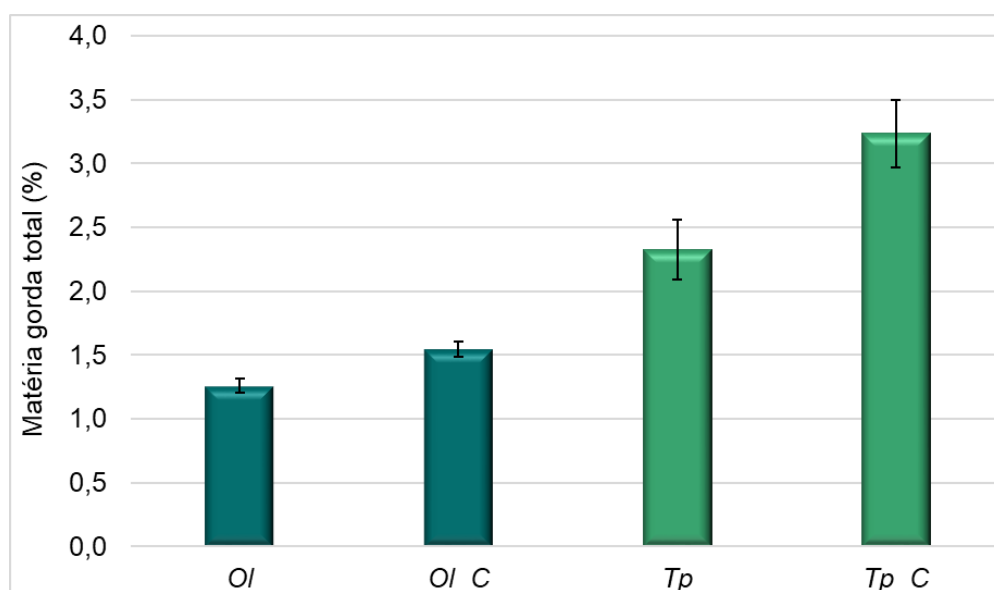


Figura 30 – Teor médio em matéria gorda total em *Otala lactea* e *Theba pisana*, fervidas (Ol e Tp) e cozinhadas (Ol_C e Tp_C), n = 6 .

Os teores em MGT nas duas espécies de caracol foram inferiores a 4%. Os valor mínimo e máximo registados foram de 1,3% (Ol) e 3,2% (Tp_C).

A caracoleta riscada *Otala lactea* apresenta uma carne mais magra comparativamente à do caracol *Theba pisana*. Os resultados obtidos mostram ainda um ligeiro aumento do teor de MGT em ambas as amostras cozinhadas, cuja confeção terá presumivelmente incluído o uso de ingredientes como o azeite e/ou outras gorduras vegetais, molhos, especiarias e/ou caldos de carne (concentrados de carne). O uso de ingredientes com fração lipídica explicaria o reforço do teor de lípidos na mistura de cozedura e, consequentemente, a sua absorção e presença na carne de caracol. O tipo de

ingredientes utilizados e as suas proporções, podem assim alterar em múltiplas escalas os níveis de quantificação para este parâmetro neste tipo de amostras sujeitas a processos culinários (118). Ainda assim, na espécie *Otala lactea* o aumento do teor lipídico após a confeção foi menos acentuado, o que poderá ser explicado pela utilização de diferentes ingredientes ou pela menor taxa de absorção de gordura da sua carne face à *Theba pisana*.

Em estudos nutricionais para a determinação da MGT em caracóis terrestres, os resultados encontrados são maioritariamente menores.

Relativamente a amostras de caracóis não processados, Çağıltay *et al.* (14) registaram valores de 0.58% de MGT na *Helix aspersa*, enquanto Özoğul *et al.* (51) reportam 0.41% em *Helix pomatia*. No entanto, são igualmente descritos valores até 1,1% (48) e 1,23% (53) para espécies *Helix pomatia*. A *Cernuella virgata* apresenta entre 1,2 e 1,7% de matéria gorda total (16). As espécies gigantes africanas aproximam-se mais dos resultados obtidos, entre 1,6% e 2,6% de MGT nas espécies *Archachatina marginata*, *Achatina achatina* e *Achatina fulica* (50).

Nas principais tabelas nutricionais apresentadas na literatura (Capítulo I, Secção 4, Tabela 1), os valores são entre 0,9% e 1,4%, para “caracol” ou *escargot* cru e cozinhado. Os “caracóis cozinhados com molho de salsa” apresentam 23,7% de MGT. Nas tabelas nutricionais do USDA, são apresentados valores de 1,67% para caracóis do género *Helix* pré-cozinhados e 1,59% para a *Helix lucorum* enlatada e cozida apenas em água (55). Tal como verificado neste projeto, as tabelas nutricionais em referência apontam o aumento do teor de lípidos após confeção em meios ricos em fontes lipídicas. O valor de MGT referente ao “caracol cozinhado com molho de salsa” (23,7%) (Capítulo I, Secção 4, Tabela 1) também demonstra como a adição de ingredientes pode aumentar significativamente o teor em MGT.

Ainda assim, os resultados teóricos diferem ligeiramente dos obtidos, nomeadamente no que se refere às amostras de *Theba pisana* e na comparação concordante entre as amostras apenas fervidas e as amostras prontas a consumir. Isto sugere que, além das espécies de caracóis variarem ligeiramente entre si quanto ao seu teor lipídico, a *Theba pisana* representa um dos exemplares mais gordurosos tendo em conta o núcleo de espécies citadas. Milinks *et al.* (92) apontaram também um valor parecido (2,7%) em *Helix aspersa maxima* sujeita a um regime alimentar rico em proteínas e específico para o

estudo, contrastando com os 0,5% obtidos com outra dieta, o que demonstra que essa variável na vida de cada caracol também terá influência no teor lipídico da sua carne.

Não obstante, mesmo considerando o valor máximo de 3,2 % obtido para o caracol *Theba pisana* confeccionado, o qual corresponderá à forma de consumo dos caracóis pela população portuguesa, este encontra-se abaixo dos valores associados a carnes cruas de porco ou vaca, e parecido à carne de frango crua sem pele. Cozinhadas e temperadas, como são habitualmente consumidas, as carnes tradicionais podem apresentar valores de gordura muito superiores, tornando a diferença face aos caracóis ainda maior (121). A tabela nutricional do INSA, demonstra a diferença do teor lipídico dos caracóis em estudo com o de outros tipos de carne, confirmando que ambas as espécies estudadas são uma boa alternativa dietética sob o ponto de vista da redução do consumo de gorduras (121).

De acordo com a organização mundial de saúde (OMS), para garantir o aporte adequado de ácidos gordos essenciais e energia, e para facilitar a absorção de vitaminas lipossolúveis, o consumo diário de lípidos totais em adultos deve ser superior a 15% das calorias consumidas, sendo aceitável entre os 20 e os 35 por cento (%) (124).

Admitindo uma dieta de 2000 kcal diárias, considerando a energia fornecida pelo catabolismo de um grama de gordura de 9 Kcal e tendo em conta o valor máximo obtido nos resultados experimentais de 3,2% de MGT na *Theba pisana* cozinhada, 100 g destes caracóis analisados corresponderiam apenas a aproximadamente 1,45% do limite mínimo recomendado pela organização mundial de saúde, pelo que está longe de constituir um risco à ingestão exagerada de gorduras e pode ser facilmente conciliado sob este ponto de vista nutricional com as outras refeições efetuadas ao longo do dia.

Para o valor de DDR de lípidos totais de 70 g, mencionado na legislação europeia (123), a *Otala lactea* e a *Theba pisana* confeccionadas e prontas a consumir representam, por cada 100 g, uma contribuição de cerca de 2,2 e 4,6% desse valor referencial.

3.4. Hidratos de carbono

3.4.1. Totais

A Figura 31 apresenta os hidratos de carbono totais obtidos por cálculo (Capítulo III, Secção 4.3.2), a partir da matéria seca, teor proteico, lipídico e mineral, assim como o teor total de açúcares redutores.

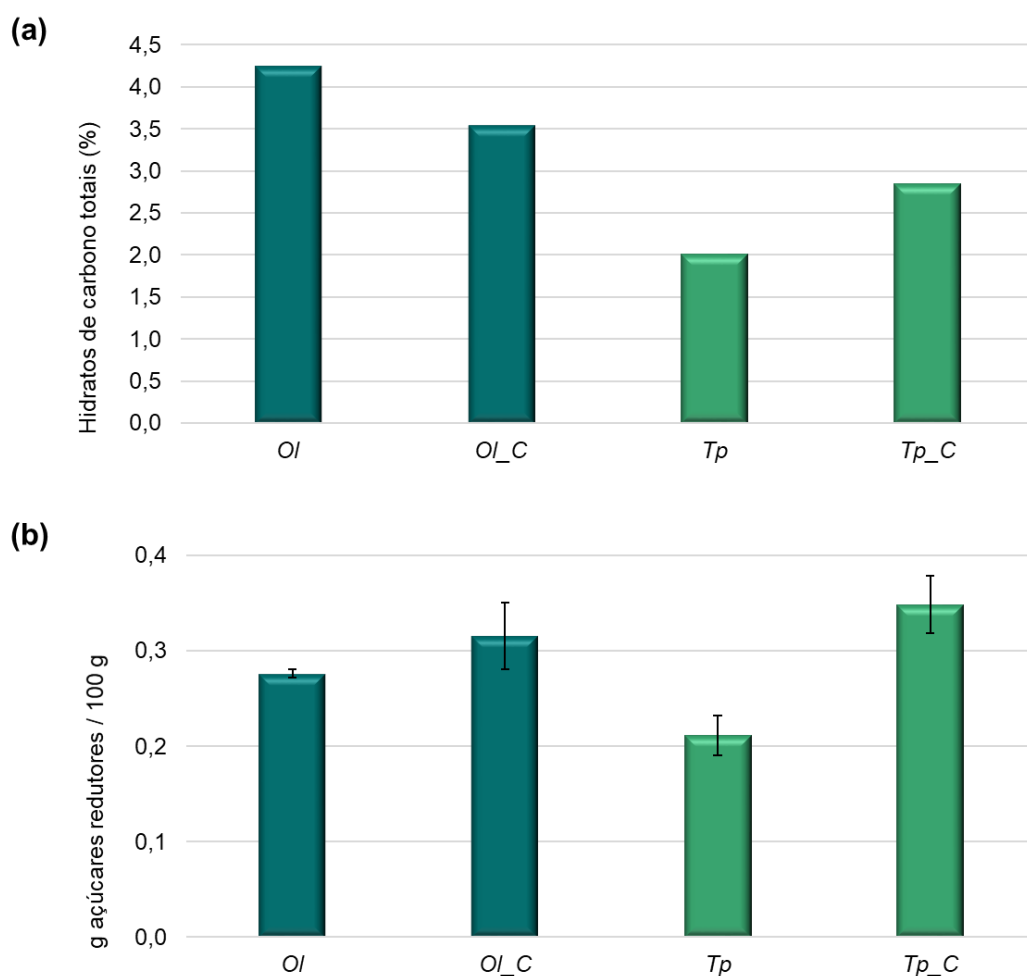


Figura 31 – Teor médio de hidratos de carbono (a) e de açúcares redutores (b) nas amostras de caracoleta riscada *Otala lactea* e do caracol *Theba pisana*, fervidas (Ol e Tp) e cozinhadas (Ol_C e Tp_C).

Os hidratos de carbono totais variaram entre 2,0% (Tp) e 4,3% (Ol), e os açúcares redutores entre 0,21% (Tp) e 0,35% (Tp_C). A espécie *Otala lactea* é mais rica em hidratos de carbono do que a espécie *Theba pisana*. Os resultados sugerem que a confeção dos caracóis não tem uma influência direta e proporcional no seu teor de hidratos de carbono, já que houve um decréscimo nesse parâmetro para a *Otala lactea* e um acréscimo no caso da *Theba pisana*. A diferença no teor entre as amostras fervidas e as cozinhadas dever-se-á ao processo de confeção, maioritariamente aos condimentos adicionados, uma vez que após confeção as duas espécies não tiveram o mesmo comportamento. A determinação dos hidratos de carbono totais por cálculo é afetada pela

variação individual de cada parâmetro nutricional, uma vez que não foi feito um doseamento específico. Deste modo, a variação ou erro associados à determinação de qualquer um dos parâmetros proteína, matéria gorda total, cinza e matéria seca (Capítulo III, Secção 4) terá um peso significativo no valor dos hidratos de carbono. Destes, a cinza parece ser o parâmetro mais influente nos resultados obtidos.

O conteúdo de hidratos de carbono totais em caracóis engloba os polissacáridos de reserva, predominantemente o glicogénio, e monómeros como a glucose (16). Atendendo a vários estudos nutricionais, a carne de caracol apresenta quase sempre um teor de hidratos de carbono totais abaixo dos 5%, o qual é concordante com os valores obtidos abaixo do teor máximo obtido para a *Otala lactea*, particularmente na amostra não confeccionada (4,3%). Para a espécie *Helix pomatia* encontram-se valores correspondentes a hidratos cabonos totais (calculados por diferença) na ordem dos 1,3% (51), para a espécie *Ceruella virgata* entre 1,0% e 2,9% (16), e para espécies gigantes africanas encontram-se valores de 1,8% para a espécie *Archachatina marginata* e 3,0% para a espécie *Achatina achatina* (50). As exceções são valores de 7,3% encontrados para a *Achatina fulica* (50) e um estudo de Milinks *et al.* (92) em *Helix aspersa maxima*, que reporta teores de hidratos de carbono totais entre 7,1% e 10,0%, demonstrando que o tipo de dieta do caracol ao longo da sua vida pode ter um grande impacte na sua composição nutricional, nomeadamente no teor de hidratos de carbono.

Nas principais tabelas nutricionais apresentadas na literatura (Capítulo I, Secção 4, Tabela 1), os valores de hidratos de carbono totais são também inferiores aos verificados neste trabalho para as espécies *Otala lactea* e *Theba pisana*. Para “caracol” ou escargot cru e cozinhado são apresentados valores entre 0,2% e 1,7%. Para os “caracóis cozinhados com molho de salsa” (2,3%), o valor aproxima-se um pouco mais dos teores obtidos neste trabalho para as amostras cozinhadas (3,6% e 2,9%).

Para a caracoleta *Otala lactea*, o teor de hidratos de carbono totais é equiparado ao encontrado em alimentos como a sardinha gorda frita (3,5%), ostras (3,9%) ou leite de ovelha cru (4,2%) (121). Para o caracol *Theba pisana*, o teor de hidratos de carbono total é equiparado ao do mexilhão cru ou cozido sem sal (2,0% e 2,8%), pescada frita (2,1%), fígado de vaca (2,1%) ou amêijoia crua (2,6%). As carnes tradicionais possuem teores de hidratos de carbono ligeiramente mais baixos, nomeadamente a carne de frango (< 2%), vaca (≈ 1%) e porco (< 1%) estufadas com óleo, margarina ou azeite (121). As formas

cruas apresentam 0% de hidratos de carbono, assim como no pescado, o que indica a tendência de ganho de hidratos de carbono na confeção da carne e peixe (121).

Para uma dieta de 2000 kcal e com um consumo médio diário de hidratos de carbono de 260 g, uma dose de 100 g de *Otala lactea* e 100 g de *Theba pisana*, representariam, respetivamente, 1,4% e 1,1% da DDR (123), mostrando-se uma boa alternativa para dietas em que se pretenda uma reduzida ingestão de hidratos de carbono.

Todas as amostras apresentam um teor de açúcares redutores semelhantes entre si e inferior a 0,35%. A amostra *OI* é a que apresenta uma razão de hidratos de carbono/açúcares redutores mais elevada ($\approx 15\%$). A razão para as outras amostras foi de 11% (*OI_C*), 9,5% (*TP*) e 8,2% (*TP_C*).

Ambas as espécies aumentaram o seu teor de açúcares após confeção, o que é esperado devido não só à quebra de polissacáridos com a temperatura e a sua conversão em açúcares simples, como também à possível absorção de açúcares provenientes do meio de confeção.

Poucos resultados são encontrados relativamente ao teor de açúcares simples em caracóis terrestres. No entanto, Gomot (48) determinou 1,7% de monossacáridos totais para a espécie *Helix aspersa maxima*, um valor superior aos resultados obtidos neste trabalho para qualquer amostra. Também em estudos à hemolinfa de *Achatina fulica* (100), foram encontrados teores de 1,2%.

Nas principais tabelas nutricionais apresentadas na literatura (Capítulo I, Secção 4, Tabela 1), os valores apresentados quanto ao teor de açúcares redutores é mais baixo e coincidente com os resultados obtidos, com menos de 0,3% para “caracol” ou *escargot* cru e cozinhado, e um máximo de 1,02%, para “caracóis cozinhados com molho de salsa”.

Os níveis de açúcares totais em carne de caracol podem ser comparados aos encontrados em alimentos como por exemplo lagostim (0,2%), camarão cru ou cozido sem sal (0,3%) e carne de porco estufada com gordura animal ou vegetal (0,4%) (121).

Estas concentrações de açúcares simples terão um impacte negligenciável no consumo de açúcar diário recomendado, de 90 g (123), já que representarão, por cada 100 g dos caracóis estudados, menos de 0,0004% dessa quantidade.

4. Micronutrientes

4.1. Cinzas totais

A Figura 32 apresenta o teor médio de cinzas obtido para as amostras de *Otala lactea* e *Theba pisana* fervidas (*OI* e *Tp*) e confeccionadas (*OI_C* e *Tp_C*).

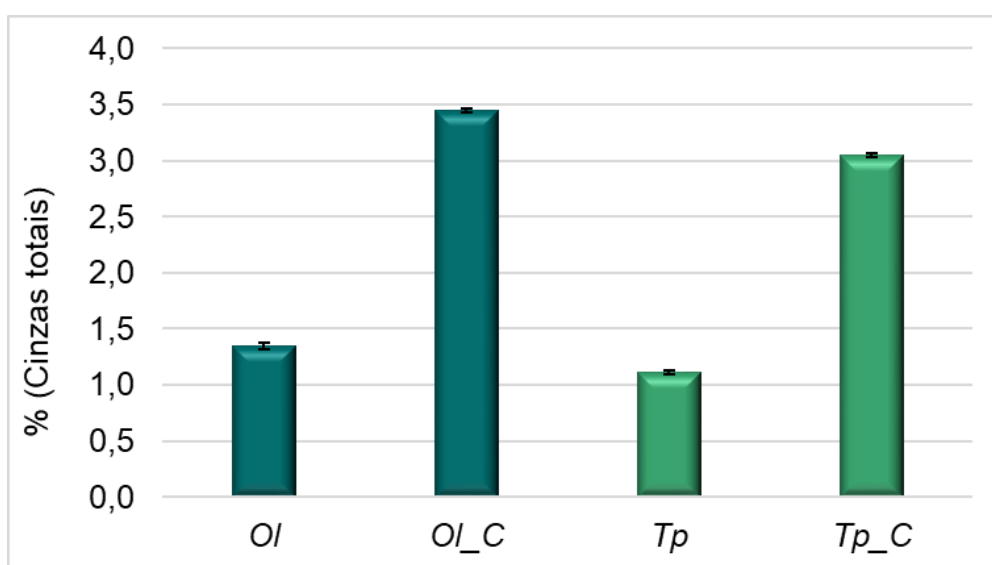


Figura 32 – Teor de cinzas nas amostras de caracoleta riscada *Otala lactea* e do caracol *Theba pisana*, fervidas (*OI* e *Tp*) e cozinhadas (*OI_C* e *Tp_C*), $n = 5$.

Os resultados médios do teor de cinza total variam entre 1,1% (*Tp*) e 3,5% (*OI_C*), sendo a espécie *Otala lactea* mais rica em minerais, quer na sua forma fervida, quer confeccionada. Durante a confeção, ambas as espécies aumentaram o seu teor mineral, em cerca de três vezes ($\cong 2,6$). Também são encontrados, em estudos científicos, resultados semelhantes para outras espécies de caracóis terrestres não cozinhados, mas abaixo dos valores obtidos para as amostras cozinhadas.

Para a espécie *Helix aspersa* reportam-se teores de 1,1% (14), entre 0,7 e 1,1% (48,92) para a subespécie *Helix aspersa maxima*, e um valor ligeiramente superior (1,5%) para a *Helix aspersa aspersa* (48). Para o caracol *Helix lucorum*, os valores são da mesma ordem (1,4%) (48). Todas estas espécies apresentam teores de cinza semelhantes aos resultados obtidos para as amostras fervidas de *Otala lactea* (1,4%) e *Theba pisana* (1,1%).

Com um teor de cinzas um pouco superiores, são apontados os caracóis da espécie *Helix pomatia* (1,8% e 1,9%) (48,51), a *Cernuella virgata* (2,0% a 2,5%) (16) e as espécies gigantes africanas, nomeadamente a *Archachatina marginata*, a *Achatina achatina* e a *Achatina fulica* (entre 1,8 e 2,6%) (50).

Nas principais tabelas nutricionais apresentadas na literatura (Capítulo I, Secção 4, Tabela 1), os valores aproximam-se mais dos resultados das amostras confeccionadas. O “caracol cru” é apresentado com 2,59% de cinzas, o “caracol cozinhado sem gordura” com 1,84% e o “caracol cozinhado com molho de salsa” com 3,19%. Os dados das tabelas nutricionais, em conjunto com os resultados obtidos, sugerem que pode haver perda de minerais durante o processamento dos caracóis, mas que a confeção aliada a outros ingredientes promoverá a absorção de muitos minerais para carne de caracol, que na generalidade compensará as eventuais perdas.

Apesar dos valores disponíveis, o teor mineral e o consequente teor de cinzas totais está intensamente relacionado com características intrínsecas e os meios dos quais os caracóis provêm, nomeadamente o seu tipo de alimentação, a espécie, o seu ciclo biológico, a estação do ano e o conteúdo e biodisponibilidade do mineral a que estiverem expostos no ambiente (50,51,75). Todos estes fatores e os diferentes graus de absorção de minerais terão impacto no teor e na composição mineral presente na carne de caracol, pelo que os resultados podem diferir consideravelmente mesmo entre indivíduos da mesma espécie, consoante as condições de criação, de desenvolvimento e fatores ambientais (16,48,50).

Entre os minerais constituintes destas cinzas totais, estarão predominantemente na carne de caracol, cálcio, sódio, magnésio, ferro, zinco, fósforo, potássio e manganês (13,30,50).

Os valores de cinza obtidos para a carne de *Otala lactea* e *Theba pisana*, na forma fervida, são comparáveis ao teor mineral total de vários alimentos, como o lombo de porco e vaca crus (1,1%), perna de porco crua (1,12%), corvina crua (1,2%), rim de vaca cru (1,35%) ou frango inteiro cozido com pele (1,39%) (121). Em relação à forma confeccionada, também existem alguns alimentos com teor mineral idêntico à *Otala lactea* e *Theba pisana*, nomeadamente carnes e pescado já preparados, como coelho e porco estufado com margarina e outras gorduras (3%), bacalhau cozido e berbigão cru (3,20%), lula grelhada (3,6%) e mortadela (3,9%) (121).

Ainda segundo a tabela nutricional do INSA, os cubos de carne de galinha e vaca apresentam cinzas de 43,3% e 46,1%, demonstrando um grande conteúdo mineral (121). A adição destes caldos para a confecção dos caracóis será presumivelmente o maior contributo para o aumento do teor mineral na carne dos caracóis cozinhados.

4.2. Minerais

A análise dos vários minerais da caracoleta riscada *Otala lactea* e do caracol *Theba pisana* englobou a quantificação dos macrominerais e microminerais essenciais nutritivos, não nutritivos e tóxicos. Dentro destas categorias, incluem-se vários metais pesados (tóxicos). A Tabela 30 sumariza todos os resultados obtidos, bem como o tipo de método utilizado em cada análise.

Como esperado, os macrominerais são os minerais de maiores concentrações encontrados nos caracóis analisados, nomeadamente o cálcio, o fósforo, o sódio (principalmente nas amostras cozinhadas), o potássio e o magnésio.

Entre os microminerais nutritivos, destacam-se o ferro, manganês e zinco, entre 0,58 mg/100 g e 5,40 mg/100 g, considerando todas as amostras analisadas para estes minerais. O mineral essencial em menor presença, de forma global, é o cobre (entre 1,00 µg/100 g e 2,07 µg/100 g).

Nos minerais sem valor nutricional, destacam-se a presença de estrôncio, que varia entre 0,89 mg/100 g e 2,34 mg/ 100g, e o bário, com um valor muito elevado para a amostra OI (10,6 mg/100 g), variando nas restantes amostras entre 1,08 mg/100 g e 3,65 mg/100 g . Outros elementos de relevância nesta categoria de minerais, em ordem decrescente, são o lítio 45,7 µg/100 g – 246 µg/100 g) e o vanádio (7,71 µg/100 g – 11,5 µg/100 g), sendo os restantes elementos presentes em baixas concentrações ou apenas residualmente. O berílio e o tálio foram os metais menos expressivos, com uma concentração inferior ao limite de quantificação do método para todas as amostras estudadas.

De acordo com os níveis de risco mínimo associados à ingestão de minerais estabelecidos pela ATSDR (Capítulo I, Secção 5.2, Tabela 3), nenhum dos minerais essenciais ou não nutritivos (Be, Cr, Mo, Sb, Se , Sn, Sr, V e Sn) obtidos nos caracóis *Otala lactea* e *Theba pisana* representa um risco de toxicidade aguda, sub-crónica ou crónica, demonstrando que o consumo dos caracóis em estudo é segura em relação a

esses parâmetros. A premissa de que os caracóis são uma fonte sólida de microminerais (16) é confirmada através dos resultados para as espécies *Otala lactea* e *Theba pisana*.

Tabela 30 – Concentração de minerais em caracoleta riscada *Otala lactea* e caracol *Theba pisana* fervidos (*OI* e *Tp*) e cozinhados (*OI_C* e *Tp_C*).

Classificação (125)	Mineral	Unidades	n	Média				Método	
				OI	OI_C	Tp	Tp_C		
Macrominerais	Cálcio	mg/100 g	3	293	247	364	273	Vol: Complex. EDTA EAM: Mét.vanadomolibdico Vol: Complexometria EDTA ICP-AES ICP-AES	
	Fósforo	mg/100 g	3	128	158	140	168		
	Magnésio	mg/100 g	3	58,7	54,0	66,6	62,2		
	Potássio	mg/100 g	1	73,0	53,4	77,5	65,0		
	Sódio	mg/100 g	1	60,1	838	92,2	775		
Microminerais	Essenciais, nutritivos	Cobalto	µg/100 g	1	9,26	9,00	7,73	6,84	ICP-MS
		Cobre	µg/100 g	1	1,00	1,87	1,71	2,07	ICP-MS
		Crômio	µg/100 g	1	10,9	14,2	10,9	1,32	ICP-MS
		Ferro	mg/100 g	3	3,84	4,12	4,69	5,40	EAM: Mét. o-fenantrolina
		Manganês	mg/100 g	1	1,23	1,57	0,829	2,07	ICP-AES
		Molibdênio	µg/100 g	1	16,9	22,4	18,3	24,4	ICP-MS
		Níquel	µg/100 g	1	15,5	11,4	8,82	8,93	ICP-MS
		Selênio	µg/100 g	1	1,43	3,85	< 1,33	2,06	ICP-MS
		Silício	µg/100 g	1	1,91	2,69	2,66	< 2,05	ICP-OES
		Zinco	mg/100 g	3	0,576	1,57	0,575	1,39	EAM: Mét. Zincon
	Não nutritivos	Alumínio	µg/100 g	1	559	921	647	487	ICP-AES
		Boro	µg/100 g	1	485	410	399	371	ICP-AES
		Estanho	µg/100 g	1	3,24	2,44	2,23	1,71	ICP-MS
		Estrôncio	mg/100 g	1	1,64	2,34	0,98	0,89	ICP-MS
		Prata	µg/100 g	1	1,94	3,42	1,78	3,10	ICP-MS
	Tóxicos	Arsênio	µg/100 g	1	2,41	3,68	1,70	2,16	ICP-MS
		Cádmio	µg/100 g	1	22,7	27,9	23,1	31,3	ICP-MS
		Chumbo	µg/100 g	1	17,0	13,1	16,4	23,9	ICP-MS
		Antimônio	µg/100 g	1	< 0,60	7,28	0,66	3,15	ICP-MS
		Lítio	µg/100 g	1	246	207	179	45,7	ICP-MS
		Tálio	µg/100 g	1	< 0,600	< 0,710	< 0,660	< 0,680	ICP-MS
		Vanádio	µg/100 g	1	7,79	11,5	7,71	9,60	ICP-MS
		Berílio	µg/100 g	1	< 0,600	< 0,710	< 0,660	< 0,680	ICP-MS
		Bário	mg/100 g	1	10,6	3,65	1,08	1,11	ICP-AES

Os minerais tóxicos, nomeadamente o arsênio, o cádmio e o chumbo, irão ser discutidos de forma mais pormenorizada (Secção 4.2.6), bem como os macro- e microminerais quantificados no laboratório de bromatologia, nomeadamente o cálcio, o fósforo, o magnésio, o ferro e o zinco.

Os resultados obtidos mostram também a variabilidade a que o teor de minerais pode estar sujeito entre as diferentes espécies, mas também entre amostras da mesma espécie, fervidas ou cozinhadas. A influência do processo de confeção nem sempre é conclusiva.

4.2.1. Cálcio

Os teores de cálcio nas amostras de caracol variaram entre 247 mg/100 g (*Ol_C*) e 364 mg/100 g (*Tp*). Em ambas as espécies houve um decréscimo do teor de cálcio nas amostras confeccionadas face às amostras fervidas. Apesar da utilização da água de consumo humano (com cálcio), assim como ingredientes potencialmente ricos em cálcio (alho, orégãos ou caldos de carne), os resultados sugerem que a carne de caracol perde cálcio com o processamento térmico. A amostra *Theba pisana* é mais vulnerável à perda de cálcio do que a espécie *Otala lactea* nas condições a que os caracóis foram processados (tempo, temperatura e ingredientes usados), assumindo que estas foram idênticas.

Estudos experimentais confirmam que o teor de cálcio pode ser muito variável de espécie para espécie e entre indivíduos. Çağıltay *et al.* (14) reportam, para *Helix aspersa*, valores de 135,7 mg/ 100 g de cálcio, enquanto Baby *et al.* (47) apontam valores mais baixos para espécies do género *Helix* (13,6 mg/100 g). Essa variabilidade intra-espécies é também confirmada por Madejón *et al.* (59), precisamente para a espécie *Theba pisana*, em que se verificou que, entre outros minerais, o teor de cálcio diferenciava bruscamente dependendo da zona em que os caracóis para a amostra eram recolhidos. Obtiveram-se variações até na ordem dos 2000 mg/100 g, reportados em peso seco (59).

Outros autores reportaram valores consideravelmente mais elevados que os obtidos neste estudo, demonstrando, de novo, a existência de uma grande gama de concentrações em cálcio para a carne de caracol. Özoğul *et al.* (51) quantificaram 726 mg/100 g de cálcio para caracóis *Helix pomatia*. Para a espécie *Ceruella virgata*, Sando *et al.* (16) obtiveram teores de cálcio entre 720 mg/100 g e 1720 mg/100 g. Também nas espécies gigantes africanas é possível verificar a variação em teores de cálcio, que estão compreendidos entre 66,3 mg/100 g e 126,4 mg/100 g para as espécies *Archachatina marginata*, *Achatina achatina* e *Achatina fulica* (50).

Nas principais tabelas nutricionais apresentadas na literatura (Capítulo I, Secção 4, Tabela 1), pode verificar-se que os teores de cálcio para “caracol cru” (90 mg/100 g), para “escargot enlatado” (169 mg/100 g) e “escargot cozinhado” (150 mg/100 g) estão todos abaixo do resultado mínimo obtido neste trabalho, 247 mg/100 g (*OL_C*).

No aporte em cálcio, os caracóis *Otala lactea* e *Theba pisana* prontos a consumir são comparáveis a outros alimentos cujos teores em cálcio variam entre os 245 e 275 mg por cada 100 g (121), como por exemplo, miolo de avelã (249 mg/100 g), couve-galega cozida (264 mg/100 g), leite de vaca evaporado (259 mg/100 g) ou miolo de amêndoa (266 mg/100 g) (121).

Face aos resultados apresentados, pode considerar-se a carne de caracol como uma excelente fonte de cálcio e muito superior a carnes tradicionais, como por exemplo, a carne de vaca, frango ou porco, que apresentam normalmente valores inferiores a 30 mg/100 g, mesmo cozinhadas com outra fontes de cálcio como margarina ou manteiga (121).

O VRN (valor de referência nutricional) para o cálcio (800 mg) (123) seria alcançado com cerca de 324 gramas de carne da caracoleta riscada *Otala lactea* confeccionada, ou 293 gramas de carne de caracol *Theba pisana* confeccionada. Em tomas de 100 g destes caracóis prontos a consumir, a *Otala lactea* representaria aproximadamente 31% do aporte diário necessário, e a *Theba pisana* cerca de 34%.

Nesta perspetiva, estes caracóis podem ser uma boa alternativa para complementar o aporte de diário de cálcio nas dietas, especialmente para pessoas que consomem poucas fontes abundantes e tradicionais deste nutriente, como o leite e os seus derivados. Também grupos especialmente necessitados de cálcio, como por exemplo grávidas e mães em período de lactação, podem obter nos caracóis um bom complemento para suprir o aporte de cálcio (52).

4.2.2. Fósforo

Os teores de fósforo obtidos variam entre 128 mg/100 g (*Ol*) e 168 mg/100 g (*Tp_C*). O teor de fósforo da caracoleta *Otala lactea* e *Theba pisana* estão da mesma ordem de grandeza, embora superiores na *Theba pisana*. Em ambas as espécies, verifica-se um aumento do teor de fósforo pela confeção, de cerca de 30 mg por 100 g. A adição de

ingredientes com fósforo no meio de confeção pode explicar esse aumento, nomeadamente o uso de caldos de carne, alho e especiarias, como a pimenta.

Os teores de fósforo mencionados para a carne de caracol pela comunidade científica são geralmente mais baixos, embora demonstrem de novo a variabilidade entre espécies, assim como entre indivíduos da mesma espécie. Madejón *et al.* (59) demonstraram essa variabilidade com a quantificação de teores entre 890 e 1030 mg/100 g (peso seco) para caracóis da mesma espécie recolhidos em diferentes áreas.

Num estudo com várias espécies do género *Helix*, são reportados baixos teores de fósforo, nomeadamente, 10,2 mg de fósforo (P) por 100 g de caracol (47). Çağıltay *et al.* (14) reportam 96,7 mg P/100 g especificamente em *Helix aspersa*. Para a espécie *Helix pomatia*, o valor sobe ligeiramente para 104,5 mg P/100 g (51).

Na espécie *Cernuella virgata* (130,0 a 140,0 mg/100 g) as concentrações em fósforo são superiores (16), e são concordantes com os resultados obtidos para as amostras *Oi* (128 mg/100 g) e *Tp* (140 mg/100 g). A dispersão de resultados para o fósforo é reforçada no trabalho de Babalola O. *et al.* (50) em caracóis gigantes africanos, com valores de fósforo entre 14,8 mg/100 g e 23,0 mg/100 g.

Nas principais tabelas nutricionais apresentadas na literatura (Capítulo I, Secção 4, Tabela 1), estão disponíveis resultados parecidos aos obtidos para as amostras fervidas. O “caracol cru” apresenta 157 mg P/100 g e o “caracol cozinhado com molho de salsa” 150 mg P/100 g.

A carnes de caracol de *Otala lactea* e *Theba pisana* cozinhadas têm concentrações de fósforo equiparadas às do bife de vaca cru e bacalhau seco salgado (169 mg/100 g), fiambre (164 mg/100 g), ovo de galinha estrelado em margarina (159 mg/100 g) ou cherne cozido (156 mg/100g) (121).

Analisando o teor em fósforo nos caracóis confeccionados, com base no VRN do fósforo de 700 mg (123), conclui-se que seria necessário ingerir cerca de 443 g de *Otala lactea* e 417 g de *Theba pisana* para satisfazer esse valor referencial. Uma dose mais realista de 100 g diárias destas duas espécies, corresponderia, na mesma ordem, a 23 e 24% do VRN de fósforo.

Mesmo considerando outras fontes tradicionais mais ricas em fósforo, nomeadamente carne suína, de aves e da maioria do pescado (121), a carne de caracol *Otala lactea* e

Theba pisana pode ser considerada uma boa fonte de fósforo para complementar dietas alimentares mais carentes neste mineral.

4.2.3. Magnésio

Os teores de magnésio nas amostras compreendem valores entre os 54,0 mg/100 g (*Ol_C*) e 66,6 mg/100 g (*Tp*). A espécie *Theba pisana* mostra-se ligeiramente mais rica em magnésio, quer na forma fervida como na cozinhada. As amostras fervidas apresentam os maiores teores de magnésio, o que indica a perda deste mineral durante o processo de confeção, mesmo na presença de magnésio no meio, proveniente da água da rede de abastecimento usada e eventualmente de ingredientes de confeção, como por exemplo a pimenta. Os resultados sugerem que a perda de magnésio será sempre superior a uma eventual absorção deste mineral, em qualquer uma das espécies.

Na comparação com estudos de referência para outras espécies de caracóis terrestres, verifica-se que os resultados obtidos nesta avaliação nutricional são globalmente um pouco superiores.

Para a *Helix aspersa* encontram-se teores de 17,1 mg/100 g (14) e para as espécies gigantes africanas *Archachatina marginata*, *Achatina achatina* e *Achatina fulica*, teores entre 15 mg/100 g e 26 mg/100 g (50). As avaliações nutricionais disponíveis relativas a este parâmetro para a *Helix pomatia* sugerem que esta será uma das espécies que mais se aproxima dos valores obtidos, com 54,1 mg/100 g (51).

Nas principais tabelas nutricionais apresentadas na literatura (Capítulo I, Secção 4, Tabela 1), o “caracol cru” apresenta também um valor coincidente (48,3 mg/100 g), enquanto o “caracol cozinhado com molho de salsa” apresenta 35,0 mg/100 g de magnésio. No entanto, há um valor que se destaca, nomeadamente o teor de 240 mg/100 g de magnésio para “escargot cozinhado”, o que poderá indicar que o magnésio também pode ser maioritariamente absorvido pela carne de caracol em determinadas condições de confeção.

Os teores de magnésio das amostras de *Otala lactea* e *Theba pisana* confeccionadas (54 mg/100 g e 62 mg/100 g) são comparáveis aos do tremoço cru e salgado (54 mg/100 g), bacalhau seco demolido e grelhado (57 mg/100 g), berbigão cru (58 mg/100 g), lula estufada com azeite, tomate e cebola (58 mg/100 g), alho em pó (60 mg/100 g), pão de centeio (62 mg/100 g) ou choco grelhado 64 mg/100 g (121). As carnes de consumo

tradicional apresentam geralmente teores de magnésio entre os 20 mg/100 g e 40 mg/100 g (121).

Analisando os resultados obtidos para *Ol_C* e *Tp_C*, seria necessário consumir 695 g de caracoleta riscada *Otala lactea* e 603 g de caracol *Theba pisana* por dia para alcançar o VRN de magnésio (375 g) (123). A ingestão de 100 g de carne destas duas espécies representa, respetivamente, cerca de 14% e 17% do VRN para o magnésio.

Face a estas considerações, as carnes de caracol *Otala lactea* e *Theba pisana* mostram-se uma boa fonte de magnésio para complementar a dieta no aporte deste mineral, sendo fontes superiores à de outros tipos de carne, nomeadamente suína, bovina ou de aves, bem como a uma grande variedade de pescado (121).

4.2.4. Ferro

Na quantificação de ferro obtiveram-se resultados entre 3,84 mg/100 g (*Ol*) e 5,40 mg/100 g (*Tp_C*).

As amostras cozinhadas, de ambas as espécies, apresentam um teor em ferro superior (absorção da água de consumo ou dos ingredientes de confeção). O aumento é maior na espécie *Theba pisana* (0,71 mg) do que na espécie *Otala lactea* (0,28 mg).

Há uma grande dispersão de resultados para o ferro, quer intra-espécies, quer inter-espécies.

Baby *et al.* (47) reportaram, para espécies do género *Helix*, uma concentração férrica ligeiramente inferior às obtidas na *Otala lactea* e na *Theba pisana* (3,2 mg/100 g). No entanto, Çağıltay *et al.* (14) e Özoğul *et al.* (51) referem valores ainda mais baixos para as espécies *Helix aspersa* e *Helix pomatia*, de 0,5 mg/100 g e 1,7 mg/100 g, respetivamente.

Para os caracóis gigantes africanos são reportados valores mais próximos (entre 1,3 mg/100 g e 2,3 mg/100 g), mesmo que representem, ainda assim, quantidades inferiores às obtidas para as amostras neste estudo (47).

Nas principais tabelas nutricionais apresentadas na literatura (Capítulo I, Secção 4, Tabela 1), a tendência para teores baixos de ferro também se mantém. O “caracol cru” apresenta 2,60 mg/100 g de ferro e o “caracol cozinhado com molho de salsa” apresenta

2,50 mg/100 g de ferro. Um pouco superiores, e mais perto de alcançar os resultados obtidos nas amostras de *Otala lactea* e *Theba pisana* analisadas, apresentam-se 3,0 mg/100 g de ferro para “escargot cozinhado” e 3,1 mg/100 g para o “escargot enlatado”.

Nas fontes alimentares de ferro comparáveis aos caracóis *Otala lactea* e *Theba pisana*, incluem-se o mexilhão cozido sem sal (4,0 mg/100 g), pato sem pele assado em margarina (4,5 mg/100 g), perdiz estufada com margarina (5,0 mg/100 g), ou gema de ovo de galinha cru (5,5 mg/100 g) (121).

O VRN de ferro é de 14 mg (123). Seria necessário ingerir diariamente cerca de 340 g da caracoleta riscada *Otala lactea* e 259 g do caracol *Theba pisana* para alcançar esse valor. Uma porção de 100 g da parte edível destes caracóis representa aproximadamente 29 e 39% do respetivo VRN.

O ferro disponível na carne dos caracóis confeccionados é mais alto do que nas carnes tradicionais (normalmente abaixo de 3,0 mg/100 g, dependendo da peça de carne e do modo de confeção) (121), revelando-se uma excelente fonte de ferro e um alimento a considerar na perspetiva de combater situações de anemias simples ou crónicas, sobretudo em grupos de risco ou indivíduos em que o aporte de ferro é geralmente insuficiente. O facto do ferro presente no caracol ser ferro inorgânico, que é mais facilmente absorvido, é uma vantagem relativamente a fontes vegetais, tal como a ausência de agentes complexantes, como os fitatos e oxalatos na sua constituição (16,52).

4.2.5. Zinco.

Obtiveram-se teores de zinco entre 0,58 mg/100 g (*OI* e *Tp*) e 1,57 mg/100 g (*OI_C*), sendo os resultados iguais para as duas espécies fervidas e semelhantes nas formas cozinhadas, nas quais foram quantificadas maiores concentrações de zinco para ambas as espécies. Os caldos de carne, o alho ou a cebola são alguns ingredientes contendo zinco e presumíveis de terem aumentado a concentração nos caracóis após a confeção. Verifica-se um aumento ligeiramente mais acentuado na forma cozinhada face à fervida na espécie *Otala lactea*, que pode dever-se a diferentes capacidades de absorção entre as espécies para este mineral ou ligeiras diferenças nas condições de confeção.

De acordo com outros estudos nutricionais para a carne de caracol terrestre, os teores de zinco quantificados mostram-se, de forma geral, mais baixos que os citados na

literatura. No entanto, o zinco é um dos minerais cuja absorção por parte do caracol pode ser bastante variável consoante a sua alimentação e a sua origem, sendo natural a ocorrência de desvios, mesmo para indivíduos da mesma espécie (50).

Özoğul *et al.* (51) determinaram um teor de zinco de 1,4 mg/100 g para caracóis *Helix pomatia*, enquanto Drozd *et al.* (30) quantificaram uma média de 1,98 mg/100 g de zinco para essa mesma espécie fervida a 95 °C por 3/4 minutos. Drozd *et al.* (30) confirmaram que os caracóis *Helix pomatia* submetidos a um tratamento térmico de cozedura (100 °C por 25 minutos), mesmo sem serem temperados e condimentados, apresentam um teor de zinco superior em relação aos caracóis crus, já que foram quantificados teores entre 2,90 mg/100 g e 3,71 mg/100 g para os caracóis submetidos a esse processo de cozedura. Os mesmo autores (30) obtiveram concentrações entre 2,03 mg/100 g (*Helix aspersa maxima*) e 2,09 mg/100 g (*Helix aspersa aspersa*) para caracóis fervidos.

O teor de zinco apresentado nas principais tabelas nutricionais apresentadas na literatura (Capítulo I, Secção 4, Tabela 1) mostra-se superior aos resultados obtidos para *Ol* e *Tp* (0,58 mg/100 g), mas menor que os teores de *Ol_C* (1,57 mg/100 g) e *Tp_C* (1,39 mg/100 g). É apresentado um teor em zinco de 1,17 mg/100 g para o “caracol cru” e de 1,20 mg/100 g para o “caracol cozinhado com molho de salsa”. A grande variabilidade dos teores de zinco entre indivíduos da mesma espécie, nomeadamente *Theba pisana* e *Helix aspersa*, foi demonstrada por alguns autores durante a pesquisa de metais pesados em caracóis de diferentes áreas e sujeitos a diferentes graus de poluição, encontrando-se intervalos de variação (em peso seco) de 40,7 mg/ 100 g a 392,5 mg /100 g para *Theba pisana* (59,74) e de 27,50 mg/100 g a 81,10 mg /100 g (peso seco) para *Helix aspersa* (61).

Os teores de zinco obtidos neste trabalho para as espécies *Otala lactea* e *Theba pisana* é inferior às concentrações existentes em carnes como a de porco (normalmente acima dos 2 mg/100 g) e de vaca, cujos valores da carne cozida, estufada ou grelhada, em conjunto com outros ingredientes, podem exceder facilmente os 4 mg/100g (121). O teor de zinco em *Otala lactea* e *Theba pisana* confeccionadas pode ser comparável ao encontrado em carne de frango, nomeadamente pernas de frango (com pele) grelhadas, estufadas e cozidas ou frango inteiro cozido (1,4 mg/100 g), bem como ovos de galinha confeccionados (1,3 mg/100 g), frango inteiro com pele cozido, estufado, grelhado ou assado (1,3 mg/100 g) ou pernas de frango (sem pele) cozidas (1,6 mg/100 g) (121). Algum pescado também apresenta teores de zinco parecidos, nomeadamente o robalo

grelhado (1,6 mg /100 g), lagostim cozido (1,5 mg/100 g) ou o chicharro cozido (1,4 mg /100 g) (121).

O VRN de zinco é de 10 mg diários (123), o que corresponderia ao consumo de aproximadamente 637 g de caracoleta riscada *Otala lactea* confeccionada ou 719 g de caracol *Theba pisana* confeccionado. Doses de 100 g destes caracóis corresponderiam aproximadamente a 16 e 14% do respetivo VRN.

Apesar da variabilidade nos seus teores e da existência de outras carnes melhores portadoras de zinco, a carne de caracol *Otala lactea* e *Theba pisana* pode ser considerada um bom complemento alimentar para o aporte de zinco, ao nível de algumas carnes brancas magras e de algum pescado (121).

4.2.6. Metais tóxicos

Todas as amostras apresentaram concentrações em arsénio (As), cádmio (Cd) e chumbo (Pb) acima do limite de quantificação.

. As concentrações mais baixas foram identificadas no arsénio, com valores entre 1,70 µg/100 g (*Tp*) e 3,68 µg/100 g (*Ol_C*), registando-se maior concentração deste metal tóxicos para a espécie *Otala lactea*.

Para o chumbo, os resultados obtidos variaram entre 13,1 µg/100 g (*Ol_C*) e 23,9 µg/100 g (*Tp_C*). Contudo, não se pode concluir quais das espécies apresenta maior teor de chumbo na generalidade, já que as tendências verificadas diferem nas amostras fervidas e confeccionadas.

O cádmio foi o mineral tóxico mais representado, entre 22,7 µg/100 g (*Ol*) e 31,3 µg/100 g (*Tp_C*). Neste mineral, a *Theba pisana* foi a espécie onde se obtiveram maiores concentrações.

Segundo os limites provisórios diários para variados metais pesados tóxicos suscetíveis à ingestão por parte dos seres humanos, indicados pela ATSDR (Capítulo I, Secção 5.2, Tabela 3), o valor referente à toxicidade crónica para o cádmio (0,0001 mg/kg/dia) pode ser facilmente ultrapassado relativamente às amostras cozinhadas analisadas *Ol_C* (27,9 µg/100 g) e *Tp_C* (31,3 µg/100 g). Considerando uma pessoa de 70 kg, o consumo diário de cádmio em condições crónicas não deverá exceder os 0,007 mg. Para as

concentrações obtidas em 100 g das amostras *Ol_C* e *Tp_C*, a concentração de cádmio é aproximadamente 0,03 mg.

De acordo com o Regulamento nº 1881/2006 da Comissão Europeia (77), que estabelece as concentrações máximas de certos contaminantes para vários grupos de géneros alimentícios, é possível comparar alguns teores máximos permitidos com as concentrações obtidas, ainda que não sejam especificados limites para caracóis terrestres.

Selecionando alimentos de origem animal comparáveis aos caracóis, o limite estabelecido para o chumbo em “parte comestível do peixe” é de 0,30 mg/kg. Esse valor constitui uma concentração de chumbo superior à obtida para as amostras *Ol_C* (\cong 0,1 mg/kg) e *Tp_C* (\cong 0,2 mg/kg). Caso seja considerado o valor para moluscos bivalves, que pertencem à mesma divisão taxonómica, o valor legislado é de 1,5 mg/kg, mitigando ainda mais algum risco que possa ser associado aos caracóis neste parâmetro.

Para o cádmio, no entanto, é definido o limite de 0,05 mg/kg para a “parte comestível do peixe” (com algumas exceções), e para os moluscos bivalves o limite sobe para 1,0 mg/kg. Considerando o valor para “parte comestível do peixe”, todas as concentrações de cádmio obtidas, para as amostras de caracóis fervidas (\cong 0,2 mg/kg) e cozinhadas (\cong 0,3 mg/kg), excedem esse valor. No entanto, considerando o valor dos bivalves como o mais relacionado possível, as amostras encontram-se dentro das especificações legais.

Os resultados sugerem que os caracóis não apresentam um risco elevado relativamente à toxicidade de arsénio, cádmio e chumbo. Contudo, num cenário improvável de ingestão crónica e significativa dos caracóis analisados, o cádmio poderia vir a constituir um risco de toxicidade crónica, segundo os limites provisórios estabelecidos pela ATSDR (73).

O caracol é considerado um macroconcentrador de cádmio (Cd) nas suas vísceras (126) e altamente tolerante a esse elemento (59,61). Vários autores referem a acumulação preferencial de cádmio em tecido de caracóis em comparação com outros elementos vestigiais (59). Roma *et al.* (61) quantificaram entre 0,50 e 0,92 mg Cd/kg para a espécie *Helix aspersa*, que são valores superiores aos obtidos neste estudo (22,7 µg/100 g - 31,3 µg/100 g). Também Madéjon *et al.* (59) demonstraram que podem ser encontradas concentrações de cádmio em caracóis *Theba pisana*, tendo quantificado teores médios entre 0,05 mg/kg e 1,29 mg/kg (peso seco), e tendo sido o elemento tóxico

quantificado em maior quantidade no seu estudo, e cujos teores obtidos geraram maior preocupação. Por outro lado, Radwan *et al.* (74) não obtiveram qualquer concentração de cádmio em amostras de *Theba pisana*, o que demonstra como o teor neste metal pode variar mesmo entre espécies, o que também foi concluído por Madéjon *et al.* (59).

Para o teor de arsénio, estão referenciados valores entre 0,07 mg/kg e 0,36 mg/kg para *Helix aspersa* (61), e entre 21,5 mg/kg e 92,1 mg/kg (peso seco) em *Theba pisana* de zonas contaminadas (59), que também ultrapassam os resultados obtidos neste estudo (1,70 µg/100 g - 3,68 µg/100 g). Para espécies gigantes africanas *Achatina achatina*, Eneji *et al.* (15) obtiveram concentrações entre 0,21 mg/kg e 0,81 mg/kg, também acima dos resultados obtidos neste estudo.

Os valores de chumbo recolhidos para caracóis terrestres, nomeadamente em potenciais zonas poluídas, também são superiores aos verificados para as amostras analisadas neste trabalho (13,1 µg/100 g - 23,9 µg/100 g). Roma *et al.* (61) quantificaram, para a espécie *Helix aspersa*, concentrações de chumbo entre 0,20 mg/kg e 3,66 mg/kg. Em peso seco, Radwan *et al.* (74) registaram concentrações de chumbo entre 6,86 mg/kg e 28,8 mg/kg para caracóis *Theba pisana*. Considerando também ambientes poluídos, outros autores obtiveram valores entre 14,3 mg/kg e 117 mg/kg de chumbo, para a mesma espécie (peso seco) (59).

4.3. Vitamina C

A Figura 33 apresenta o teor médio de vitamina C obtido para as amostras de *Otala lactea* e *Theba pisana* fervidas (Ol e Tp) e confeccionadas (Ol_C e Tp_C).

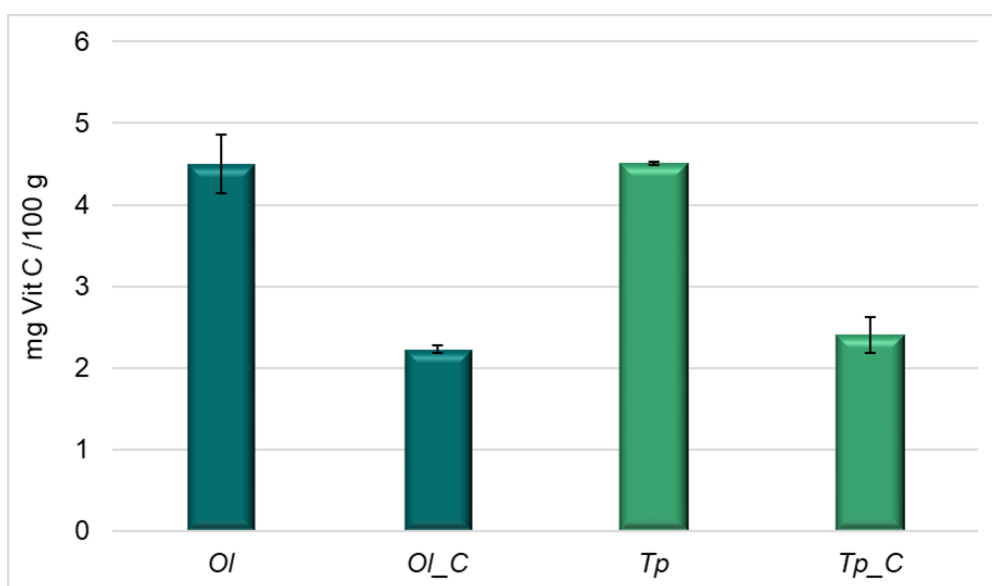


Figura 33 – Teor de vitamina C nas amostras de caracoleta riscada *Otala lactea* e caracol *Theba pisana* fervidas (Ol e Tp) e cozinhadas (Ol_C e Tp_C).

A concentração de vitamina C nos caracóis variou entre 2,23 mg/100 g (Ol_C) e 4,51 mg/100 g (Tp). É possível observar que ambas as espécies apresentaram o mesmo teor de vitamina C na forma apenas fervida, e que existe uma redução de mais de 2 mg nas amostras confeccionadas (redução de 2,27 mg para a espécie *Otala lactea* e 2,11 mg para a espécie *Theba pisana*). Este decréscimo é esperado, já que a vitamina C é hidrossolúvel e será perdida para a água de confeção dos caracóis, como acontece com outros alimentos (118). Dado que a diferença entre os teores das amostras fervidas e prontas para consumo é muito similar para ambas as espécies, e admitindo que a taxa de perda de vitamina C é idêntica em ambas as espécies, é sugerido que as condições de confeção tenham sido as mesmas ou que a taxa de perda de vitamina C máxima tenha sido alcançada em ambos os processamentos.

Estando os caracóis tradicionalmente mais associadas a vitaminas A, E e do complexo B, não foram encontrados registos de estudos nutricionais para a quantificação de vitamina C em carne de caracol, apesar do seu conteúdo em ácido ascórbico ser referido na literatura (16). Ainda assim, algumas tabelas nutricionais (Capítulo I, Secção 4, Tabela 1) oferecem bases de comparação que podem ser utilizadas na falta de outros recursos. É atribuído um teor de 15 mg/100 g ao “caracol cru”, e 12 mg/100 g a “escargot cozinhado”. Ambos os valores se encontram muito acima dos resultados obtidos para as

espécies *Otala lactea* e *Theba pisana*. No entanto, segundo a USDA, para escargot enlatado, o teor de vitamina C é nulo.

Alimentos com teores equiparáveis de vitamina C aos da caracoleta riscada *Otala lactea* e do caracol *Theba pisana* (entre 2 e 3 mg/100 g), incluem algumas frutas e legumes, nomeadamente a maçã e cenoura cozidas (2,0 mg/ 100 g), e pêras, abacates e pepinos crus (3,0 mg/100 g) (121). Estas concentrações de vitamina C são mais elevadas que as encontradas em carnes tradicionalmente consumidas em Portugal e à generalidade do pescado, que normalmente não contêm vitamina C sem a adição de nenhum conservante ou ingrediente externo (121).

Atendendo ao VRN de vitamina C de 80 mg (123), seria necessário um aporte diário de 3,6 kg de *Otala lactea* confeccionada e de 3,4 kg de *Theba pisana* confeccionada para satisfazer este valor por completo. Doses de 100 g de parte edível de *Otala lactea* e *Theba pisana* correspondem, respetivamente, a 2,8% e 3,0% do VRN, mostrando-se assim uma fraca fonte de contribuição para suplementar as necessidades de vitamina C diárias, ainda que sejam uma melhor fonte de vitamina C do que a maioria dos restantes produtos cárneos (121).

5. Pesticidas

No grupo dos pesticidas, analisaram-se 23 compostos pertencentes a 3 classes: herbicidas, inseticidas e fungicidas. Em qualquer amostra analisada, o teor de pesticidas revelou-se abaixo do limite de quantificação do método de cromatografia líquida de alta eficiência associado à espetrometria de massa *tandem* (HPLC-MS/MS), após extração líquido-líquido (LLE). A Tabela 31 apresenta os limites de quantificação dos pesticidas por LLE-HPLC-MS/MS. A ausência de resíduos de pesticidas na carne de caracol é um bom indicador de qualidade e de segurança do produto alimentar, relativamente à possibilidade de riscos toxicológicos associados a este tipo de contaminantes.

Tabela 31 – Limites de quantificação (LQ) do método de LLE-HPLC-MS/MS para a análise de 23 pesticidas ($\mu\text{g/kg}$).

	Pesticida	LQ ($\mu\text{g/kg}$)
Herbicidas	Bentazona	40,0
	Clortolurão	45,2
	2,4- D	19,8
	Desetilatrizona	39,6
	Desetilterbutilazina	20,0
	Desisopropilatrizona	60,6
	Diurão	42,0
	Isoproturão	40,8
	Linurão	19,8
	MCPA	46,8
	Propanil	38,8
	Triclopir	40,2
Inseticidas	Imidacloprida	20,0
	Dimetoato	21,2
	Carbofurão	3,96
	Clorpirifos	20,0
	Fosmete	20,2
	Metidatião	41,6
	Metiocarbe	40,4
Fungicidas	Cimoxanil	40,4
	Carbendazim	10,0
	Pirimetanil	19,8
	Tebuconazol	20,4

6. Avaliação geral

6.1. Impacte da confeção

As formas de transferência de calor, a temperatura, a duração do processo e o meio de cozedura utilizados são alguns dos principais fatores que acarretam alterações nas características químicas, físicas e nutricionais do alimento. A cozedura promove trocas químicas, físicas e estruturais nos componentes alimentares, que terão repercussões no seu teor nutricional (118,127). Apesar da principal alteração de concentrações se poder dever à perda de água nos processos de cozedura, tornando os alimentos normalmente mais concentrados, podem haver outras variáveis que conduzem a alterações nutricionais, como a quantidade de alimento cozinhado, a composição, o pH, reações enzimáticas, de oxidação e interativas, ou o volume da água de cozedura (118).

A Tabela 32 ilustra quais os nutrientes e metais que sofreram um aumento ou um decréscimo coincidente entre ambas as espécies de caracóis nas amostras confeccionadas, bem como os parâmetros em que não foi possível estabelecer nenhuma relação coerente entre as duas espécies.

Tabela 32 – Nutrientes e elementos que subiram e desceram de concentração nas amostras confeccionadas de ambas as espécies.

	Decréscimo do nutriente em ambas as espécies	Aumento do nutriente em ambas as espécies	Efeito sem relação entre espécies
Macronutrientes	Água	Proteínas Lípidos totais Açúcares totais	Hidratos de carbono totais
Minerais	Ca Mg Co K B Sn Li	P Na Cu Fe Mn Mo Se Zn As Cd V Ag Sb	Cr Ni Al Pb Ba Si Sr
Vitaminas	Vitamina C		

Excetuando a água e os hidratos de carbono totais (calculados por diferença), todos os macronutrientes encontram-se em maior concentração nas amostras de caracóis cozinhadas. O decréscimo do teor de água em amostras cozinhadas face às amostras fervidas é consensual e esperado para qualquer tipo de alimento que sofra um processamento térmico (118). Especificamente em produtos cárneos, a água presente em músculos é contida nas microfibrilhas, entre os filamentos de actina e miosina, e também no tecido conjuntivo (120). Segundo Oduro *et al.* (120), a desnaturação e agregação de proteínas pode conduzir à retração de fibras reticulares e colagénio, que resultará em amostras cozinhadas mais densas e à perda de retenção de água, que será perdida. A presença de sais também contribui para esse efeito (120).

Nas proteínas totais, lípidos e açúcares redutores, além da contribuição da perda de água, a absorção de nutrientes disponíveis no meio de confecção também terá relevância (118).

Alguns dos principais efeitos que podem ter ocorrido nas proteínas pelo processamento térmico são a sua desnaturação e oxidação (118), que podem também ter levado a algumas perdas de proteína para o meio, apesar da adição externa de proteína ter contribuído para contrariar o efeito desse fenômeno. Nas gorduras, algumas das principais alterações presumíveis com o processamento térmico são a sua hidrólise, oxidação, polimerização e pirólise, podendo também haver perda de ácidos gordos essenciais e vitaminas lipossolúveis (118). No balanço do processamento, condições externas podem no entanto aumentar o teor lipídico dos alimentos cozinhados, o que aconteceu para os caracóis *Otala lactea* e *Theba pisana* (118). Carnes e peixes de pele fina mostram a absorção de gordura exterior, o que também é presumível para os caracóis, dada a sua morfologia (118). Em hidratos de carbono, o cozimento pode ter provocado essencialmente a hidrólise de polissacáridos, que é sugerida pelos resultados obtidos para os açúcares totais, e a gelatinização ou espessamento destes nutrientes (118).

Nos resultados apresentados para a determinação de minerais, confirma-se a variabilidade que estes podem ter de acordo com cada caracol, não sendo sempre seguidos padrões proporcionais entre diferentes espécies, e que o processamento pode muitas vezes não ter uma influência clara e proporcional no teor de metais na carne de caracol. No caso específico dos minerais, a cozedura, em que há contato direto com a água, pode promover a perda de nutrientes principalmente por difusão ou lixiviação (118,127). Kimura & Itokawa mostraram que a cozedura é um dos processos em que há maiores potenciais perdas de minerais em alimentos (128). A principal operação que contribui para as perdas de substâncias minerais durante o cozimento, não será causada pela destruição térmica, mas por lixiviação, em que se arrastam parte dos minerais solúveis para a água de cozedura (127). Alimentos com elevada superfície de contato face ao seu peso são mais suscetíveis (118).

Os principais minerais que desceram de concentração em ambas as amostras cozinhadas face às fervidas incluem o cálcio, o magnésio e o potássio (Tabela 32).

A cozedura de alimentos com água desmineralizada pode promover a perda de cálcio, magnésio e outros elementos essenciais (129). Tais perdas podem chegar a 60% para o

caso do magnésio e do cálcio ou mesmo mais para alguns outros microelementos. Em contraste, quando é utilizada água dura na cozedura, a perda destes elementos é muito menor e, em alguns casos, o teor de cálcio e magnésio pode mesmo aumentar nos alimentos em resultado da cozedura (118,129), o que indica que as águas de confeção utilizadas podem ter uma baixa dureza. Também se verificou, noutro estudo (130), o aumento de cálcio em carne cozinhada na presença de ossos e em condições ácidas, mas não a pH neutro. O pH das águas de cozedura aproxima-se da neutralidade (Secção 2, Tabela 29), o que também poderá ter contribuído para uma menor absorção de cálcio do meio. Noutro estudo, em brócolos cozinhados, verificaram-se também perdas significativas de cálcio e potássio (127). A perda de potássio nas amostras de caracóis cozinhados é esperada, já que é um mineral amplamente descrito como facilmente perdido em águas de cozedura (118).

Em todos os parâmetros em que se verifica um decréscimo de concentração nas amostras cozinhadas, terá virtualmente de ter ocorrido a perda de minerais para o meio, já que a concentração das amostras pela perda de água faria aumentar a concentração mineral, caso não houvesse perdas.

Relativamente ao aumento da concentração de minerais nos caracóis cozinhados, poderia ser expectável para qualquer nutriente, dados que as amostras perdem água durante a cozedura (118). No entanto, outros fatores muito importantes a ter em conta são por exemplo a dessorção de minerais dos ingredientes de confeção e dos utensílios de cozinha, nomeadamente as panelas metálicas, que podem conter por exemplo, ferro ou cobre (118).

Especialmente em meios mais ácidos, como se verificou nas águas de cozedura (Secção 2, Tabela 29), o ferro pode ser facilmente dissolvido no meio (118).

Alguns dos principais minerais de maior concentração nas amostras cozinhadas incluem precisamente o ferro, o sódio ou o zinco. O aumento brusco de sódio é explicado pela adição de cloreto de sódio (118).

No teor vitamínico (Tabela 32), o decréscimo de vitamina C também era muito previsível, já que é das vitaminas mais sensíveis à perda nos alimentos após processamento, sendo muito suscetível à destruição por oxidação química e enzimática (118,127). A oxidação ocorre principalmente na presença de oxigénio, iões metálicos, pH alcalino e temperaturas elevadas. Também se pode perder por lixiviação, como acontece com todas as vitaminas hidrossolúveis (118,127). Menores temperaturas minimizam as

suas perdas por oxidação e difusão (127). Além das elevadas temperaturas na cozedura, outros fatores que podem interferido na degradação da vitamina C nos caracóis são a elevada concentração de sais e açúcares, e catalisadores metálicos como por exemplo o ferro e cobre, entre outros (118).

Os parâmetros sem qualquer relação que possa ser estabelecida entre o teor mineral dos caracóis e a contribuição do seu processo de confeção, são os hidratos de carbono totais, o crómio, o níquel, o alumínio, o chumbo, o bário, o silício e o estrôncio (Tabela 32).

6.2. Potencial nutricional do consumo de *Otala lactea* e *Theba pisana*

Os principais resultados obtidos para a carne de *Otala lactea* e *Theba pisana* fervidas (*OI* e *Tp*) e confeccionadas (*OI_C* e *Tp_C*), são sumarizados na Tabela 33.

O valor de energia é uma estimativa considerando apenas os lípidos, as proteínas e os hidratos de carbono totais obtidos, e foi determinado usando os fatores de conversão para o cálculo de valor energético do regulamento (CE) 1169/2011 (15).

Tabela 33 – Principais resultados obtidos para carne das espécies *Otala lactea* e *Theba pisana* fervidas (*OI* e *Tp*) e confeccionadas (*OI_C* e *Tp_C*).

Parâmetro	<i>Otala lactea</i>		<i>Theba pisana</i>	
	<i>OI</i>	<i>OI_C</i>	<i>Tp</i>	<i>Tp_C</i>
Energia (kcal)	66,9	79,5	74,4	94,2
Água (%)	83,5	78,6	83,2	77,5
Proteínas (%)	9,63	12,9	11,4	13,4
Hidratos de carbono (%)	4,25	3,55	2,01	2,85
- dos quais açúcares (%)	0,28	0,32	0,21	0,35
Lípidos (%)	1,26	1,54	2,33	3,23
Cinzas totais (%)	1,38	3,45	1,12	3,05
Cálcio (mg/100 g)	293	247	364	273
Magnésio (mg/100 g)	58,7	54,0	66,6	62,2
Fósforo (mg/100 g)	128	158	140	168
Ferro (mg/100 g)	3,84	4,12	4,69	5,40
Potássio (mg/100 g)	73,0	53,4	77,5	65,0
Zinco (mg/100 g)	0,576	1,57	0,575	1,39
Sódio (mg/100 g)	60,1	838	92,2	775
Manganês (mg/100 g)	1,23	1,57	0,829	2,07
Vitamina C (mg/100 g)	4,50	2,23	4,51	2,40

Considerando os resultados obtidos, é possível observar o potencial nutricional da carne de caracol em ambas as espécies. As carnes dos caracóis analisados apresentam um baixo teor calórico devido ao seu baixo teor de gordura e de hidratos de carbono totais, mas um bom teor proteico. Apresentam um elevado conteúdo mineral e também possuem vitamina C. Os minerais nutritivos mais representativos são o cálcio, fósforo, sódio, potássio, magnésio, ferro, manganês e zinco.

Sendo os caracóis normalmente comercializados e servidos na sua forma inteira (com concha), poderá ter-se esse dado em conta na construção de uma tabela nutricional para ambas as espécies: a caracoleta riscada *Otala lactea* e o caracol *Theba pisana*. A Tabela 34 sumariza a principal informação nutricional obtida para estas duas espécies na sua forma de consumo tradicional, ou seja, confecionados e considerando também a concha, que não será consumida e cujo valor nutricional inerente não tem qualquer efeito na dieta. Simulando a rotulagem oficial deste alimento, é também apresentado o valor da dose diária recomendada para cada parâmetro (123) considerando 100 g de cada caracol inteiro.

Tabela 34 – Tabela nutricional obtida para as espécie *Otala lactea* e *Theba pisana* confecionadas (considerado a concha) e respetivos valores diários de consumo (%VD).

Parâmetro	<i>Otala lactea</i> confecionada		<i>Theba pisana</i> confecionada	
	Caracol inteiro	%VD	Caracol inteiro	%VD
Energia (kcal)	34,8	1,74	39,5	1,97
Água (%)	34,4	-----	32,5	-----
Proteínas (%)	5,63	11,3	5,63	11,3
Hidratos de carbono (%)	1,55	0,60	1,20	0,46
- dos quais açúcares (%)	0,00	0,0	0,00	0,00
Lípidos (%)	0,674	0,963	1,35	1,94
Cinzas totais (%)	1,51	-----	1,28	-----
Cálcio (mg/100 g)	108	13,5	114	14,3
Magnésio (mg/100 g)	23,6	6,31	26,1	6,96
Fósforo (mg/100 g)	69,2	9,88	70,5	10,1
Ferro (mg/100 g)	1,80	12,9	2,26	16,2
Potássio (mg/100 g)	23,4	1,17	27,3	1,36
Zinco (mg/100 g)	0,687	6,87	0,583	5,83
Manganês (mg/100 g)	0,687	34,4	0,868	43,4
Vitamina C (mg/100 g)	0,976	1,22	1,01	1,26

Uma ingestão de 100 g de caracoletas riscadas *Otala lactea*, que é facilmente alcançável, é uma excelente fonte de nutrientes, nomeadamente de manganês, cálcio, ferro, e proteínas, cujo aporte fica acima dos 10% da sua DDR para essa porção. O

mineral mais destacado é o manganês, que constitui 34,4% da DDR. Mostra-se também uma boa fonte de fósforo, zinco e magnésio. Em sentido contrário, apresenta contribuições baixas para a DDR energética, de gorduras e hidratos de carbono, o que pode ser uma grande vantagem em países industrializados ou populações sedentárias cuja tendência é exceder os valores de ingestão recomendados, nomeadamente no que diz respeito a estes parâmetros.

Uma ingestão de 100 g de caracóis *Theba pisana*, que é facilmente alcançável, é uma excelente fonte de nutrientes, nomeadamente de manganês, ferro, cálcio, proteínas e fósforo, cujo aporte fica acima dos 10% da sua DDR para essa porção. O mineral mais destacado é o manganês, que constitui 43,4% da DDR. Mostra-se também uma boa fonte de magnésio e zinco. Em sentido contrário, apresenta contribuições baixas para a DDR energética, de gorduras, hidratos de carbono e açúcares, o que pode ser uma grande vantagem em países industrializados ou populações sedentárias cuja tendência é exceder os valores de ingestão recomendados, nomeadamente no que diz respeito a estes parâmetros.

7. Controlo de qualidade interno

A análise dos vários métodos para a caracterização físico-química e nutricional dos caracóis foi acompanhada pelo respetivo controlo de qualidade interno, do qual faziam parte a análise de brancos, replicados, padrões de controlo e ensaios de recuperação. A calibração analítica foi sempre acompanhada pela análise das curvas de calibração, nomeadamente pela avaliação do coeficiente de determinação ($R^2 \geq 0,99$), e coeficiente de variação do método ($CV_m \leq 5\%$). A Tabela 35 apresenta, de forma resumida, os resultados inerentes ao CQI para os vários parâmetros analisados nos caracóis. A Tabela 36 indica a mesma informação, mas para as águas analisadas.

O número de réplicas analisadas em cada parâmetro foi variável, embora fossem sempre analisadas no mínimo 3 réplicas de cada espécie de caracol, cozinhado e não cozinhado. No mínimo, foram efetuadas 12 réplicas na análise de cada parâmetro. Determinou-se o DPR% para as 3 réplicas. Determinou-se a média do desvio padrão relativo (%) de cada amostra (Ol , Ol_C , Tp , Tp_C). No caso em que os valores obtidos não foram homogêneos para as duas espécies e/ou forma de processamento, apresentam-se os valores mínimos e máximos obtidos.

Tabela 35 – Principais resultados inerentes ao controlo de qualidade interna dos parâmetros nutricionais estudados.

Parâmetro	LQ	Gama trabalho*	R ²	CV (%)	Branco	DPR%	Erro (%)			Rec (%)
							C1	C2	C3	
Matéria seca	0,07% (m/m)	---	---	---	---	1,6	---	---	---	---
Cinza total	0,07% (m/m)	---	---	---	---	1,1	---	---	---	---
Proteínas	0,4% (m/m)	---	---	---	---	2,8	---	---	---	100
Matéria gorda total	0,07% (m/m)	---	---	---	---	6,6	---	---	---	---
Vitamina C	0,43 mg/100 g	0,1 - 1 mL	0,9974	3,2	< LD (0,03 mL)	4,9	13	5,2	---	93
Fósforo	37 mg/100 g	0,03 – 0,5 mg	0,9995	1,8	< LD (0,01 mg)	3,7	-11	-13	---	115
Cálcio	53 mg/100 g	---	---	---	< LD (12 mg/L)	7,8	4	4	-4	110
Dureza total	2,7% (m/m)	---	---	---	< LD (61 mg/L)	2,6	2,8	-9,5	---	---
Ferro	3,2 mg/100 g	50 - 250 µg	0,9978	2,9	< LD (15 µg)	6,1	-5,2	---	---	99
Zinco	0,58 mg/100 g	0,4 - 4 mg/L	0,9999	0,90	< LD (0,12 mg/L)	7,0	15	1,2	---	66
Açúcares totais	0,10% (m/m)	3 – 80 mg/L	0,9998	3,6	< LD (0,9 mg/L)	7,7 (1,5 (OI) - 11 (OI_C))	0,84	3,2	---	108

*As gamas de trabalho apresentam as unidades utilizadas no traçado da curva de calibração
 --- Não aplicável

Tabela 36 – Principais resultados inerentes ao controlo de qualidade interna dos parâmetros nutricionais para as águas.

Parâmetro	LQ	Gama trabalho*	R ²	CVm (%)	Branco	DPR%	C1	C2	C3	Rec (%)
Resíduo Seco	0,01% (m/V)	---	---	---	---	0,70	---	---	---	---
Matéria gorda total	0,02% (m/V)	---	---	---	---	10	---	---	---	---
Proteínas	0,6 mg/L	---	---	---	< LD (0,2 g/L)	4,7	---	---	---	97
pH	---	---	---	---	< 7,0	---	2,00	0,33	1,00	---
Turvação	0,3 UNT	---	---	---	< LD (0,1UNT)	---	11,8	0,00	-1,02	---
Fluoretos	0,05 mg/L	0,06 - 1 mg/L	0,9926	10	< LD (0,02 mg/L)	---	---	---	-3,10	127

*A gama de trabalho apresenta as unidades utilizadas no traçado da curva de calibração
 --- Não aplicável

Capítulo V. Conclusões e perspectivas futuras

A percentagem de massa edível nos caracóis *Otala lactea* e *Theba pisana* cozinhados é de 44% e 42%, respetivamente.

As espécies apresentam perfis nutricionais muito semelhantes, cujos potenciais benefícios inerentes ao seu consumo são confirmados em todas as amostras: A parte edível dos caracóis *Otala lactea* e *Theba pisana* prontos a consumir (*Ol_C* e *Tp_C*) possui elevadas concentrações de proteína (*Ol_C* 13% e *Tp_C* 13%) , baixos teores de gordura (*Ol_C* 1,5% e *Tp_C* 3,2%) e de hidratos de carbono (*Tp_C* 2,9% e *Ol_C* 3,6%), e elevado conteúdo mineral (*Ol_C* 3,5% e *Tp_C* 3,1%), destacando-se as concentrações de sódio (*Tp_C* 775 e *Ol_C* 838 mg/100 g), cálcio (*Ol_C* 247 e *Tp_C* 273 mg/100 g), fósforo (*Ol_C* 158 e *Tp_C* 168 mg/100 g), potássio (*Ol_C* 53 e *Tp_C* 65 mg/100 g), magnésio (*Ol_C* 54 e *Tp_C* 62 mg/100 g), ferro (*Ol_C* 4,1 e *Tp_C* 5,4 mg/100 g) manganês (*Ol_C* 1,6 e *Tp_C* 2,1 mg/100 g) e zinco (*Ol_C* 1,6 e *Tp_C* 1,4 mg/100 g). Possui ainda outros microelementos nutritivos como o molibdénio, o níquel, o cobalto, o cobre, o selénio, o crómio e o silício. São também fontes de vitamina C (*Ol_C* 2,2 e *Tp_C* 2,4 mg/100 g).

As principais alterações durante a confeção dos caracóis são a perda de água e o aumento da concentração de proteínas, matéria gorda, e da maioria dos minerais, nomeadamente o sódio, o fósforo, o zinco, o manganês e o ferro. Durante o processo, perdem-se também nutrientes mais termolábeis como a vitamina C e minerais como o cálcio, o potássio e o magnésio.

O molho normalmente servido com os caracóis (água de confeção) também possui propriedades nutricionais importantes, como proteínas ($H_2O_Ol_C$ 6,7 g/L e $H_2O_Tp_C$ 9,1 g/L) e minerais ($H_2O_Ol_C$ = 42 mS/cm e $H_2O_Tp_C$ = 44 mS/cm).

Na comparação com outros alimentos, a carne de caracóis *Otala lactea* e *Theba pisana* mostra-se como uma boa alternativa às carnes mais consumidas em Portugal, nomeadamente a carne de porco, vaca ou frango. Os teores proteicos em ambas as espécies são próximos aos encontrados nestes alimentos e em algum pescado. Os teores de gordura são mais baixos do que nas carnes tradicionais, e a percentagem mineral nas amostras analisadas é superior em minerais essenciais, como o cálcio e o ferro. As concentrações de fósforo e zinco são também próximas às das carnes tradicionais, embora mais baixas.

Em doses de 100 g de caracóis (inteiros, com casca) de *Otala lactea* e *Theba pisana* prontos a consumir, as proteínas, o cálcio, ferro e manganês estão acima dos 10% da respetiva dose diária de referência. Para a mesma dose, o fósforo contribui com 10% da dose diária recomendada.

Em doses de 100 g de caracóis (inteiros, com casca) de *Otala lactea* e *Theba pisana* prontos a consumir, o caracol *Theba pisana* cozinhado apresenta maior concentração dos minerais Ca, Mg, P, K, Fe e Mn e menor concentração de hidratos de carbono totais. A espécie *Otala lactea* cozinhada apresenta menor teor de gordura e maior concentração de zinco. O teor proteico é semelhante em ambas as espécies.

Na breve avaliação de risco toxicológico associado à ingestão de caracoleta riscada *Otala lactea* e caracol *Theba pisana*, conclui-se que nenhuma das amostras analisadas representa um risco à saúde pela contaminação por metais pesados tóxicos (arsénio, cádmio e chumbo) e por pesticidas.

Os perfis físico-químicos e nutricionais obtidos fornecem evidências de que os atributos de carne de caracol podem possivelmente ter um impacto positivo na saúde dos consumidores, não só na prevenção das doenças cardiovasculares e das anemias, mas também na forte contribuição no aporte das necessidades proteicas e minerais para a correto desenvolvimento, funcionamento e manutenção do organismo.

A carne de caracol *Otala lactea* e *Theba pisana* mostra-se também uma alternativa dietética a outras carnes tradicionais e derivados, já que é um alimento igualmente de elevado teor proteico, mas com baixos teores de gordura e hidratos de carbono.

Face às conclusões obtidas para a carne de caracol *Otala lactea* e *Theba pisana*, nota-se que este tipo de alimentos é cada vez mais procurado em sociedades desenvolvidas, em que o sedentarismo ou a ingestão em excesso de hidratos de carbono e gorduras é recorrente, e onde o combate à obesidade ou a preocupação com a saúde e a imagem adquirem um especial relevo, sendo reconhecida a importância de uma dieta equilibrada e saudável. O seu consumo também deve ser ponderado como uma boa alternativa em países em desenvolvimento, em que a disponibilidade de recursos proteicos mais dispendiosos possa ser deficiente, já que os caracóis são um alimento mais facilmente disponível e transportado, e a sua produção pode ser mais económica e simples.

Em Portugal, onde a produção, a oferta e o consumo de caracóis têm vindo a aumentar, espera-se que as principais conclusões obtidas possam vir a estimular ainda mais esta

tendência. Dado o seu potencial nutricional e os hábitos alimentares dos portugueses, a utilização de caracóis *Otala lactea* e *Theba pisana* deve ser cada vez mais encarada uma prática viável e devem ser ainda mais explorados nessa vertente, nomeadamente na sua utilização para a formulação de novos produtos alimentares. O desenvolvimento de farinhas ou papas para bebés com base nestes caracóis, que seriam um excelente contributo nutricional para crianças em desenvolvimento, pode ser visto como um exemplo fácil a ter em consideração.

Também a comunidade científica poderá vir a estimular o conhecimento e a consequente utilização das espécies *Otala lactea* e *Theba pisana*. A informação nutricional disponível para o consumo de carne de caracol terrestre ainda é reduzida face a outros alimentos, inclusivamente face aos caracóis marinhos. Particularmente acerca das espécies *Otala lactea* e *Theba pisana*, a informação nutricional disponível escasseia, sendo que a maior parte dos estudos disponíveis incidem-se no denominado caracol *escargot* ou nas espécies de caracóis gigantes africanos. Futuras avaliações nutricionais das espécies *Otala lactea* e *Theba pisana* devem também aprofundar parâmetros não analisados neste trabalho, como a caracterização lipídica, a caracterização proteica ou a caracterização vitamínica. Do mesmo modo, poderão ser explorados estudos mais específicos e direccionados para a determinação da influência de confeção nos caracóis *Otala lactea* e *Theba pisana*, utilizando formulações de confeção bem definidas e controladas para avaliar mais pormenorizadamente qual a melhor forma de consumo destes caracóis e qual o impacto que diferentes receitas podem ter.

Bibliografia e referências bibliográficas

1. Sallam A, El-Wakeil N. Biological and Ecological Studies on Land Snails and Their Control. In: Dr. Sonia Soloneski, editor. Integrated Pest Management and Pest Control - Current and Future Tactics. InTech; 2012. p. 414–44.
2. Thompson R, Cheney S. Raising Snails : Special Reference Briefs Series no. SRB 96-05 . 2008 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: https://pubs.nal.usda.gov/sites/pubs.nal.usda.gov/files/srb96-05_0.html
3. Murphy B. Breeding and Growing Snails commercially in Australia . Kingston; 2001. Available from: <https://www.agrifutures.com.au/wp-content/uploads/publications/00-188.pdf>
4. Fernández-López de Pablo J, Badal E, Ferrer García C, Martínez-Ortí A, Sanchis Serra A. Land Snails as a Diet Diversification Proxy during the Early Upper Palaeolithic in Europe. Bicho N, editor. *PLoS One*. 2014;9(8).
5. Agro-services / Agence de Promotion des Investissements Agricoles (APIA). Etude sectorielle : L'élevage d'escargots – partie monographique. . 2004. Available from: <http://doczz.fr/doc/22287/l-élevage-d-escargots>
6. Olaleye DA. Consumers' Preferences for Snail Meat in the African Community of Pittsburgh, Pennsylvania. The University of Tennessee at Martin; 2013.
7. Grupo Francisconde. Casa dos Caracóis - Produtos . [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <http://casadoscaracois.pt/produtos/#>
8. Callapez PM, Pimentel R, Dinis PA. Moluscos em Contextos Arqueológicos Portugueses: Importância e Estado da Arte. *Estud do Quaternário*. 2016;14:60–72.
9. Albuquerque de Matos RM, Corte-Real JAM. Distribution patterns of some land snails in Portugal. In: Proceedings of the EIS Colloquium.
10. Allen MJ. Molluscs in Archaeology Methods, Approaches and Applications. Allen MJ, editor. Oxbow Books; 2017. 448 p.
11. IndexBox Marketing & Consulting. World: Snails (Except Sea Snails) - Market Report - Analysis And Forecast To 2025. 2018.
12. Ghosh S, Jung C, Meyer-rochow VB. Snail Farming : An Indian Perspective of a Potential Tool for Food Security. *Ann Aquac Res*. 2016;3(3).
13. Zymantiene J, Jukna V, Jukna C, Zelvyte R, Oberauskas V. Comparison of meat quality characteristics between commercial pigs and snails. *Polish J Food Nutr Sci*. 2008;58:23–6.
14. Çağıltay F, Erkan N, Tosun D, Selçuk A. Amino acid, fatty acid, vitamin and mineral contents of the edible garden snail (*Helix aspersa*). *J Fish*. 2011;5(4):354–63.
15. Eneji IS, Wuana RA, Akpan UJ. Trace Metals Levels in African Giant Land Snails (*Achatina achatina*) from Selected Local Government Areas in Akwa Ibom State, Nigeria. *OALib*. 2016;03(03):1–9.
16. Sando D, Grujić R, Meho B, Lisickov K, Vujadinović D. Quality Indicators of Snail Meat Grown in Different Conditions. *Qual Life*. 2012;3(3–4):55–64.

17. Bouchet P, Rocroi J-P, Hausdorf B, Kaim A, Kano Y, Nützel A, et al. Revised Classification, Nomenclator and Typification of Gastropod and Monoplacophoran Families. *Malacologia*. 2017;61(1–2):1–526.
18. Solem GA. Gastropod . Encyclopaedia Britannica. 2017 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <https://www.britannica.com/animal/gastropod>
19. Hickman Jr. C, Keen S, Larson A, Eisenhour D, l'Anson H, Roberts L. Molluscs. In: Integrated Principles of Zoology. 14th ed. McGraw-Hill; 2008. p. 331–46.
20. White-McLean JA, USDA/APHIS/PPQ Center for Plant Health Science and Technology and the University of Florida. Terrestrial Mollusc Tool . 2011 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <http://idtools.org/id/mollusc>
21. Dees LT. Edible Land Snails in the United States. Washington, D.C.; 1970.
22. Mayordomo Exojo I. Cría biológica del caracol. Ediciones agrotécnicas; 2004.
23. García E. Nutrición de Caracoles. *idiaXXI*. 2003;90–4.
24. Fontanillas JC, García-Cuenca I. El caracol y la helicultura. 2nd ed. Mundi-Prensa; 2005.
25. Cobbinah JR, Vink A, Onwuka B. Snail Farming Production, processing and marketing. Agromisa. Wageningen; 2008.
26. Aupinel P, Bonnet J. Influence de la photopériode sur l'activité saisonnière de l'escargot Petit-gris Effet spécifique sur la croissance et la reproduction. *INRA Prod Anim*. 1996;9(1):79–83.
27. Cameron R. Slugs and Snails (Collins New Naturalist Library). Book 133. London: HarperCollins Publishers; 2016.
28. Yildirim MZ, Kebapçı Ü, Gümüüş BA. Edible snails (terrestrial) of Turkey. *Turkish J Zool*. 2004;28(4):329–35.
29. Schileyko A. Family Helicidae excluding Helicinae (Gastropoda Pulmonata): morphology, taxonomy, and a catalogue of taxa. *Ruthenica*. 2013;23(2):127–62.
30. Drozd Ł, Ziomek M, Szkucik K, Paszkiewicz W, Maćkowiak-Dryka M, Bełkot Z, et al. Selenium, copper, and zinc concentrations in the raw and processed meat of edible land snails harvested in Poland. *J Vet Res*. 2017;61:293–8.
31. Grilla A, Lajeunesse C, McMaster D, Morgan D. Feasibility of Snail Farming as a Model for Small Urban Farms to Expand into Niche Markets for Increased Profitability. Worchester Polytechnic Institute; 2016.
32. Bank R, Ramos M. Fauna Europaea: Helicidae. In: Fauna Europaea version 2017/06 . 2013 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <https://fauna-eu.org>
33. John L, White C, White J. Terrestrial snails affecting plants in Florida . University of Florida. 2011 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: https://entnemdept.ifas.ufl.edu/creatures/misc/gastro/terrestrial_snails.htm
34. Mifsud C, Sammut P, Cachia C. On some alien terrestrial and freshwater gastropods (Mollusca) from Malta. *Cent Mediterr Nat*. 2003;4(1):35–40.

35. Deisler J, Stange L, Fasulo T. EENY-197 White Garden Snail, *Theba pisana* (Müller) (Gastropoda: Helicidae) . 2001 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <https://edis.ifas.ufl.edu/pdf/IN/IN35400.pdf>
36. Sankaran K. Giant African Snail . [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <http://www.fao.org/forestry/22071-0a714b2449327eb9db0f552d36311fdd7.pdf>
37. Malacowiki. Helicidae. In: Malacowiki – La web de los moluscos ibéricos y macaronésicos . 2018 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <https://www.malacowiki.org/helicidae/>
38. Helixcoop – Cooperativa Agrícola dos Helicicultores de Portugal, C.R.L. . [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <https://helixcoop.wordpress.com/>
39. Cardoso M. Expresso | 14 produtores de caracóis do Norte unidos . 2017 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <https://expresso.pt/economia/2017-01-28-14-produtores-de-caracois-do-Norte-unidos#gs.9eltcv>
40. Cofina media. É época do caracol. Correio da Manhã edição 13 852. 2018;
41. Barbosa J. Vida Rural | Produzir caracóis? Não, caracoletas! . 2015 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <https://www.vidarural.pt/insights/devagar-se-vai-ao-prato/>
42. Lusa. SIC Notícias | Produção de caracóis rende três milhões e está a crescer em Portugal . 2015 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <https://sicnoticias.pt/economia/2015-01-22-Producao-de-caracois-rende-tres-milhoes-e-esta-a-crescer-em-Portugal>
43. IndexBox. World - Snails (Except Sea Snails) - Market Analysis, Forecast, Size, Trends and Insights . 2019 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <https://www.fooddive.com/press-release/20180528-global-snail-market-key-findings-and-insights/>
44. UNdata. UNdata | Snails, not sea; Trade of goods . [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <http://data.un.org/Search.aspx?q=snail>
45. UN Comtrade. United Nations Statistics Division - Commodity Trade Statistics Database (COMTRADE) . [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <https://comtrade.un.org/db/mr/daCommoditiesResults.aspx?px=H4&cc=030760>
46. Snails, edible (except sea snails) | Overview . [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <https://www.tridge.com/hs-codes/030760-snails-edible-except-sea-snails>
47. Baby RL, Hasan I, Kabir KA, Naser MN. Nutrient Analysis of Some Commercially Important Molluscs of Bangladesh. *J Sci Res*. 2010;2(2):390–6.
48. Gomot A. Biochemical Composition of Helix Snails: Influence of genetic and physiological factors. *Malacol Soc London*. 1998;64:173–81.
49. Adegoke A, Adebayo-Tayo C, Inyang U, Aiyegoro A, Komolafe O. Snails as meat source: Epidemiological and nutritional perspectives. *J Microbiol Antimicrob*. 2010;2(1):1–5.
50. Babalola OO, Akinsoyinu AO. Proximate composition and mineral profile of snail meat from different breeds of land snail in Nigeria. *Pakistan J Nutr*. 2009;8(1).

51. Özogul Y, Özogul F, Olgunoglu AI. Fatty acid profile and mineral content of the wild snail (*Helix pomatia*) from the region of the south of the Turkey. *Eur Food Res Technol.* 2005;221(3–4):547–9.
52. Engmann FN, Afoakwah NA, Darko PO, Sefah W. Proximate and Mineral Composition of Snail (*Achatina achatina*) Meat; Any Nutritional Justification for Acclaimed Health Benefits ?. *J Basic and Applied Sci Res.* 2013;3(4):8–15.
53. Szkucik K, Ziomek M, Paszkiewicz W, Drozd Ł, Gondek M, Knysz P. Fatty acid profile in fat obtained from edible part of land snails harvested in Poland. *J Vet Res.* 2018;62:519–26.
54. Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. Protein and amino acid requirements in human nutrition: Report of a Joint . WHO Technical Report Series n. 935. Genebra, Suíça; 2002 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43411/WHO_TRS_935_eng.pdf?ua=1
55. United States Department of Agriculture. Food Composition Databases Show Foods Listsnail . [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/479343/nutrients>
56. American Roland Food Corporation. Roland Foods - Full Catalog . [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <https://app.salsify.com/catalogs/8d479ec2-aefa-4432-80ef-858b9b084952/products?filter=%3D%27ProductCategory%27%3A%27Snails%2CSnails%27&page=1&query=escargot>
57. Ciquel - French food composition table . 2017 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <https://ciquel.anses.fr/>
58. Nutrition table. Nutritional information - Escargots, land snails, cooked . [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <http://www.foodnutritiontable.com/nutritions/nutrient/?id=275>
59. Madejón P, Arrébola J, Madejón E, Burgos P, López-Garrido R, Cárcaba A, et al. The snail *Theba pisana* as an indicator of soil contamination by trace elements: potential exposure for animals and humans. *J Sci Food Agric.* 2013;93(9):2259–66.
60. Alabi J, Fafiolu A, Alimba C. Absorption and bioaccumulation of heavy metals in giant african land snails (*Archachatina marginata*). *Bull Anim Heal Prod Africa.* 2015;63(4):389–96.
61. Roma D, Neola A, Serpe B, Sansone FP, Picazio D, Cerino G, et al. Land Snails (*Helix Aspersa*) as Bioindicators of Trace Element Contamination in Campania (Italy). *Open Access Libr J.* 2017;4.
62. Ewere E, Osowe K. Assessment of Heavy Metals in African Giant Snail (*Archachatina marginata*) and its Parasites Collected from three communities in Edo State, Nigeria. *Int J Sci Eng Res.* 2016;7(10).
63. Heikens A, Peijnenburg WJ, Hendriks AJ. Bioaccumulation of heavy metals in terrestrial invertebrates. *Environ Pollut .* 2001;113(3):385–93.
64. Radwan MA, El-Gendy KS, Gad AF. Oxidative Stress Biomarkers in the Digestive Gland of *Theba pisana* Exposed to Heavy Metals. *Arch Environ Contam Toxicol.* 2009;58(3):828–35.

65. Druart C, Millet M, Scheifler R, Delhomme O, Raeppe C, de Vaufleury A. Snails as indicators of pesticide drift, deposit, transfer and effects in the vineyard. *Sci Total Environ*. 2011;409(20):4280–8.
66. Scheifler R, Gomot-de Vaufleury A, Badot PM. Transfer of cadmium from plant leaves and vegetable flour to the snail *Helix aspersa*: bioaccumulation and effects. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2002 Sep;53(1):148–53.
67. Regulamento (CE) nº 853/2004 da comissão de 29 de Abril de 2004 que estabelece regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal . *Jornal Oficial da União Europeia* 2004. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:02004R0853-20100715&from=PT>
68. EFSA (European Food Safety Authority). Metals as contaminants in food | European Food Safety Authority . [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/metals-contaminants-food>
69. Kibria G. Heavy metals - Its Risk on the Environment, Water, Food and Public Health . 2018 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: https://www.researchgate.net/profile/Golam_Kibria7/publication/328732643_Presentation_Heavy_metals-_Its_Risk_on_the_Environment_Water_Food_and_Public_Health/links/5bdf289792851c6b27a78784/Presentation-Heavy-metals-Its-Risk-on-the-Environment-Water-Food-an
70. Rehman K, Fatima F, Waheed I, Akash MSH. Prevalence of exposure of heavy metals and their impact on health consequences. *J Cell Biochem*. 2018;119(1):157–84.
71. Nica D V, Bura M, Gergen I, Harmanescu M, Bordean D-M. Bioaccumulative and conchological assessment of heavy metal transfer in a soil-plant-snail food chain. *Chem Cent J*. 2012;6(1).
72. Kim HS, Kim YJ, Seo YR. An Overview of Carcinogenic Heavy Metal: Molecular Toxicity Mechanism and Prevention. *J cancer Prev*. 2015;20(4):232–40.
73. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). ATSDR Toxic Substances Portal . [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <https://www.atsdr.cdc.gov/substances/index.asp>
74. Radwan MA, El-Gendy KS, Gad AF. Biomarkers of oxidative stress in the land snail, *Theba pisana* for assessing ecotoxicological effects of urban metal pollution. *Chemosphere*. 2010;79(1):40–6.
75. Berger B, Dallinger R. Terrestrial snails as quantitative indicators of environmental metal pollution. *Environ Monit Assess*. 1993;25(1):65–84.
76. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Substance Priority List | ATSDR . 2017 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <https://www.atsdr.cdc.gov/SPL/>
77. Regulamento (CE) nº 1881/2006 da comissão de 19 de Dezembro de 2006 que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios . *Jornal Oficial da União Europeia* , 364 2006 p. 5–24. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006R1881&from=EN>

78. World Health Organization (WHO). Exposure to arsenic: A major public health concern . Genebra, Suíça; 2010 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <https://www.who.int/ipcs/features/arsenic.pdf>
79. World Health Organization (WHO). Exposure to Mercury: A major public Health concern . Genebra, Suíça; 2007 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <https://www.who.int/ipcs/features/mercury.pdf>
80. DG Health and Food Safety. Pesticides - European Commission Portal . [Accessed on 25/10/2019]. Available from: https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides_en
81. Carvalho FP. Pesticides, environment, and food safety. *Food Energy Secur.* 2017;6(2):48–60.
82. Nobrega HF. Pesticidas: Classificação, Propriedades, Toxicidade, Problemas e Soluções . Webartigos. 2014 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <https://www.webartigos.com/artigos/pesticidas-classificacao-propriedades-toxicidade-problemas-e-solucoes/121404>
83. Organização Pan-Americana da Saúde. Manual de vigilância da saúde de populações expostas a agrotóxicos . Brasília; 1997 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/livro2.pdf>
84. WHO | Pesticide residues in food? . WHO (World Health Organization). World Health Organization; 2016 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <https://www.who.int/features/qa/87/en/>
85. Nicolopoulou-Stamati P, Maipas S, Kotampasi C, Stamatis P, Hens L. Chemical Pesticides and Human Health: The Urgent Need for a New Concept in Agriculture. *Front public Heal.* 2016;4:148.
86. European Commission. EU Pesticides database - European Commission. 2016.
87. Regulamento (CE) nº 396/2005 da comissão de 23 de Fevereiro de 2005 relativo aos limites máximos de resíduos de pesticidas no interior e à superfície dos géneros alimentícios e dos alimentos para animais, de origem vegetal ou animal . Jornal Oficial da União Europeia 2005. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:02005R0396-20140202&from=LT>
88. Nielsen SS. Food Analysis. 4th ed. Springer; 2010.
89. Srigley CT, Mossoba MM. Current Analytical Techniques for Food Lipids . 2017 [Accessed on 25/10/2019]. Report No.: 7. Available from: <https://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1011&context=usfda>
90. Aued-Pimentel S, Zenebon O. Lipídios totais e ácidos graxos na informação nutricional do rótulo dos alimentos embalados: aspectos sobre legislação e quantificação. *Rev do Inst Adolfo Lutz.* 2009;68(2):167–81.
91. Codex Alimentarius. Recommended methods of analysis and sampling . 1999 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <https://www.nutfruit.org/files/llei/47709.pdf>
92. Milinsk MC, das Graças Padre R, Hayashi C, de Oliveira CC, Visentainer JV, de Souza NE, et al. Effects of feed protein and lipid contents on fatty acid profile of snail (*Helix aspersa maxima*) meat. *J Food Compos Anal.* 2006;19(2–3):212–6.

93. Jiang B, Tsao R, Li Y, Miao M. Food Safety: Food Analysis Technologies/Techniques. *Encycl Agric Food Syst*. 2014;3:273–88.
94. Moore JC, DeVries JW, Lipp M, Griffiths JC, Abernethy DR. Total Protein Methods and Their Potential Utility to Reduce the Risk of Food Protein Adulteration. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2010;9(4):330–57.
95. American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21st ed. Clesceri L, Greenberg A, Eaton A, editors. Washington DC: American Public Association; 2005.
96. Association of Officiating Analytical Chemists. Official methods of analysis of AOAC International. 18th ed. Horwitz W, Latimer G, editors. Gaithersburg, USA: AOAC International; 2005.
97. Silva R, Monteiro VN, Alcanfor J, Assis EM, Asquieri ER. Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2003;23(3):337–41.
98. Herrero M, Cifuentes A, Ibáñez E, Dolores M, Castillo D. Advanced analyses of carbohydrates in foods. In: *Methods of Analysis of Food Components and Additives*. CRC Press; 2016. p. 135–58.
99. World Health Organization / Food and Agriculture Organization of the United Nations. Carbohydrates in human nutrition: report of a joint FAO/WHO expert consultation . Roma, Itália: WHO/FAO; 1998. Available from: <http://www.fao.org/3/W8079E/w8079e00.htm#Contents>
100. Brockelman CR, Sithithavorn P. Carbohydrate reserves and hemolymph sugars of the African giant snail, *Achatina fulica* in relation to parasitic infection and starvation. *Zeitschrift für Parasitenkd Parasitol Res*. 1980;62(3):285–91.
101. Hassan A, Godah S. Quantitative analysis of total proteins and carbohydrates in the digestive gland-gonad complex (DGG) and hemolymph of the freshwater prosobranch snail *Lanistes carinatus*. *J Egypt Soc Parasitol*. 2010;40(2).
102. Nollet L. Food Analysis by HPLC. Marcel Dekker; 2000.
103. Curtius AJ. Determinação de fósforo em açós por espectrometria de absorção atômica no forno de grafite. *Quim Nova*. 1998;21(3):253–8.
104. Kastenmayer P. Analisis de minerales y elementos traza en alimentos. In: *Producción y manejo de datos de composicion química de alimentos en nutrición*. 1997. p. 271–94.
105. Georgiou CA, Danezis GP. Elemental and Isotopic Mass Spectrometry. In: *Comprehensive analytical application*. Elsevier; 2015. p. 131–243.
106. Thermo Elemental. AAS, GFAAS, ICP or ICP-MS? Which technique should I use? - An elementary overview of elemental analysis . 2001 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: [http://oliver.chemistry.ucsc.edu/122/Lab5 Handout.pdf](http://oliver.chemistry.ucsc.edu/122/Lab5%20Handout.pdf)
107. Helaluddin A, Khalid RS, Alaama M, Abbas SA. Main Analytical Techniques Used for Elemental Analysis in Various Matrices. *Trop J Pharm Res*. 2016;15(2):427–34.
108. Paixão JA, Stamford TLM. Vitaminas lipossolúveis em alimentos: uma abordagem analítica. *Quim Nova*. 2004 Feb;27(1):96–105.

109. Willy Schüep. Analisis de vitaminas en alimentos. In: Organizacion de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentacion, editor. Producción y manejo de datos de composicion química de alimentos en nutrición. 1997.
110. Instituto Português da Qualidade. Carnes, derivados e produtos cárneos. Determinação do teor de amido. Processo de referência. NP 2245:1985.
111. Instituto Português da Qualidade. Carnes, derivados e produtos cárneos. Determinação da cinza total. NP 1615:2002.
112. International Organization for Standardization. Meat and meat products - Determination of moisture content. ISO 1442 1997.
113. Instituto Português da Qualidade. Pescado. Determinação do teor da matéria gorda total. NP 1974:1992.
114. International Organization for Standardization. Sodium chloride for industrial use - Determination of calcium and magnesium contents - EDTA complexometric methods. ISO 2482 1973.
115. Instituto Português da Qualidade. Carnes, derivados e produtos cárneos. Determinação do teor de azoto total. Método de referência. NP 1612:2006.
116. International Organization for Standardization. Water quality - Determination of turbidity - Part 1: Quantitative methods. ISO 7027-1 2016.
117. Instituto Português da Qualidade. Frutos, produtos hortícolas e seus derivados. Determinação do teor de ácido ascórbico. Processos correntes. NP 3030:1985.
118. Bergström L. Nutrient Losses and Gains in the Preparation of Foods . 1994 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: http://www.fao.org/uploads/media/Bergstroem_1994_32_Livsmedelsverket_nutrient_losses_and_gains.pdf
119. Decreto-Lei n.º 152/2017 de 7 de Dezembro . Diário da República: 1.ª Série, n.º 235 2017 p. 6555–76. Available from: <https://dre.pt/application/conteudo/114315242>
120. Oduro FA, Choi N Do, Ryu HS. Effects of cooking conditions on the protein quality of chub mackerel *Scomber japonicas*. *Fish Aquat Sci*. 2012;14(4):257–65.
121. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA). Tabela da Composição de Alimentos (TCA) por componentes . 2010 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <http://www2.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/AlimentNutricao/AplicacoesOnline/TabelaAlimentos/PesquisaOnline/Paginas/PorComponentes.aspx>
122. EFSA (European Food Safety Authority). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for protein. EFSA J. 2012;10(2).
123. Regulamento (CE) n° 1169/2011 do Parlamento Europeu e do Conselho de 25 de Outubro de 2011 relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios . Jornal Oficial da União Europeia , L 304/18 2011. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:304:0018:0063:PT:PDF>

124. World Health Organization / Food and Agriculture Organization of the United Nations. Fats and fatty acids in human nutrition: report of an expert consultation . Genebra, Suíça; 2008 [Accessed on 25/10/2019]. Available from: <http://foris.fao.org/preview/25553-0ece4cb94ac52f9a25af77ca5cfba7a8c.pdf>
125. Insel P, Elaine Turner R, Ross D. Discovering Nutrition. 2nd ed. Association AD, editor. Jones and Bartlett; 2006.
126. Vaufléury AG, Pihan F. Methods for toxicity assessment of contaminated soil by oral or dermal uptake in land snails: Metal bioavailability and bioaccumulation. *Environ Toxicol Chem*. 2002 Apr;21(4):820–7.
127. Alves N, Paula L, Cunha A, Amaral C, Freitas M. Efeito dos diferentes métodos de cocção sobre os teores de nutrientes em brócolis (*Brassica oleracea* L. var. *italica*). *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2011;70(4):507–13.
128. Kimura M, Itokawa Y. Cooking Losses of Minerals in Foods and Its Nutritional Significance. *J Nutr Sci Vitaminol*. 1990;36:25–33.
129. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA). Saúde ambiental - Sistemas domésticos para tratamento de água . Available from: www.insa.pt
130. Rosen HN, Salemme H, Zeind AJ, Moses AC, Shapiro A, Greenspan SL. Chicken soup revisited: Calcium content of soup increases with duration of cooking. *Calcif Tissue Int*. 1994;54(6):486–8.

Anexos

Anexo I – Energias de colisão usadas nas transições MRM1 e MRM2 para cada pesticida.

Pesticida	Modo de Ionização	Ião Precursor	Voltagem cônica (V)	Ião Produto Quantificação (MRM1)	Energia de Colisão (eV)	Ião Produto Qualificação (MRM2)	Energia de Colisão (eV)
Bentazona	ES -	239,2	35	132,1	25	175,3	18
Carbendazim	ES +	192,3	24	160,0	15	131,9	29
Carbofurão	ES +	222,3	16	165,1	11	122,8	20
Cimoxanil	ES +	199,2	15	127,9	9	110,8	17
Clorpirifos	ES +	350,1	21	198,1	14	152,9	13
Clortolurão	ES +	212,9	25	71,6	15	-----	-----
	ES +	215,0	25	-----	-----	71,6	20
Desetilatrastina	ES +	188,0	30	146,0	15	103,7	25
	ES +	174,1	35	103,8	25	131,9	15
Desetilterbutilastina	ES +	202,0	25	146,0	15	-----	-----
	ES +	204,0	30	-----	-----	148,0	13
Dimetoato	ES +	230,2	14	199,1	10	124,8	20
Diurão	ES +	233,2	28	71,5	16	159,8	25
2,4-D	ES -	218,8	15	161,0	10	124,9	25
Fosmete	ES +	209,2	9	159,9	6	192,2	5
Imidacloprida	ES +	256,2	20	175,2	18	209,3	14
Isoproturão	ES +	207,3	26	71,5	17	165,2	14
Linurão	ES +	249,2	25	159,9	16	182,1	16
MCPA	ES -	198,9	18	141,0	13	-----	-----
	ES -	200,8	18	-----	-----	143,0	13
Metidatião	ES +	303,2	17	144,9	6	84,7	20
Metiocarbe	ES +	226,3	15	169,1	8	120,9	17
Pirimetanil	ES +	200,2	45	106,8	27	81,7	27
Propanil	ES +	217,9	35	162,1	15	126,9	25
Tebuconazol	ES +	308,3	30	69,5	20	124,8	32
Triclopir	ES +	255,8	20	210,1	15	-----	-----
	ES +	257,8	20	-----	-----	212,1	15

Anexo II – Composição de um caldo de galinha da marca *Knorr*

Ingredientes: água, sal, gordura vegetal, açúcar, extrato de levedura, vegetais em quantidades variáveis (cenoura, alho francês e alho), gordura de galinha, aromas, espessantes (farinha de semente de alfarroba e goma xantana), salsa, carne de galinha (0,2%), xarope de glucose, corantes (alfa e beta caroteno), amido modificado e especiarias.

Anexo III – Composição de caracóis embalados prontos a consumir da marca *Casa dos caracóis*

Ingredientes: Caracol (*Theba pisana*) (66,7%), água, sal, caldo de galinha [sal, intensificadores de sabor: glutamato monossódico, inosinato e guanilato dissódicos; gordura vegetal, extrato de levedura, gordura de galinha (2,9%), gordura vegetal hidrogenada, cebola em pó (1,7%), amido, carne de galinha (0,6%), aromas (contém ovo), especiarias, maltodextrina, molho de soja (grãos de soja, trigo), corante (E150c), sumo de cebola concentrado, antioxidante (extratos de rosmaninho), óleo vegetal, dextrose], alho, especiarias (contém mostarda), cebola, orégãos e piri-piri.

Alergénios e/ou substâncias intolerantes: molusco, ovo, soja, cereais com glúten e mostarda.

Anexo IV – Composição de caracóis embalados prontos a consumir da marca *Caracolete Alentejana*

Ingredientes: Caracóis selvagens – Moluscos (*Theba pisana*, Origem: Marrocos), água, sal, caldo de galinha [contém: sal, gordura vegetal hidrogenada e não hidrogenada, intensificadores de sabor (glutamato monossódico, inosinato e guanilato dissódicos), extrato de levedura, gordura de galinha, cebola, carne de galinha (0,7%), aromas (contém ovo e soro de leite), especiarias, molho de soja, corante (caramelo), extratos vegetais (contém ligústica), dextrose, antioxidantes (galato de propilo, BHA, ácido cítrico)], alho, vinagre, piri-piri e orégãos.